



Universidade Católica Portuguesa  
Faculdade de Engenharia

# Interpretação do comportamento e funcionamento da remodelação óssea através de modelos matemáticos

Paulino Miguel da Silva

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Biomédica

Presidente: Professor Doutor Manuel J. M. Barata Marques  
Vogais: Professor Doutor Rui Manuel Agostinho Dilão  
Professor Doutor José J. C. da Costa Braga  
Professor Doutor Jorge M. B. S. Rebelo

Maio de 2011

# Resumo

O osso é um tecido vivo em constante renovação, capaz de adaptar a sua geometria e a sua estrutura interna consoante as necessidades mecânicas e fisiológicas. A adaptação do osso consiste na reabsorção de osso antigo e na formação de osso novo. Esta adaptação é designada por remodelação óssea, tendo como objectivo prevenir a acumulação de danos microscópicos minimizando a possibilidade de fractura do osso e manter a homeostasia mineral,.

O mecanismo da remodelação óssea envolve processos complexos que dependem de vários factores como as interacções bioquímicas, as coordenações das actividades da unidade básica multicelular (BMU) que são constituídas pelas células de osteoblastos e células de osteoclastos, e as respostas aos estímulos mecânicos.

As abordagens exclusivamente experimentais, tanto *in vivo* como *in vitro*, não nos permitem obter uma compreensão global de um fenómeno tão complexo como a remodelação óssea. Para compreender melhor este mecanismo, é útil o desenvolvimento de novos modelos matemáticos que integrem os conhecimentos teóricos e experimentais e que permitam a compreensão das interacções mais relevantes, possibilitando a realização de simulações virtuais para verificar novas hipóteses teóricas.

Pretende-se, com o presente trabalho, fazer uma revisão actualizada de alguns modelos matemáticos e computacionais que foram elaborados para estudar a remodelação óssea. O desenvolvimento dos modelos matemáticos incide sobretudo em 2 âmbitos: o nível mecânico e o nível metabólico. Os modelos matemáticos desenvolvidos permitem descrever o comportamento e o funcionamento da remodelação óssea. Em seguida, implementar um novo modelo matemático que abranja simultaneamente os factores mecânicos e metabólicos. Posteriormente, através do novo modelo matemático, simulou-se o comportamento do osso em cenários diferentes (doença, tratamento e estímulos mecânicos). Os resultados gerados pelo novo modelo são comparados com os resultados dos modelos revistos na presente tese. Estas comparações mostram resultados qualitativamente semelhantes entre o novo modelo e os modelos dos outros autores.

Palavras-chave: Remodelação óssea; modelos matemáticos; tecido ósseo; BMU; factores metabólicos; factores mecânicos.



# Abstract

Bone is a living tissue constantly renewing itself as it is capable to adapt its geometry and internal structure in response to mechanical and physiological demands. Bone adaptation consists of reabsorption of old bone and formation of new one. This adaptation is also called bone remodeling. The goal of bone remodeling is to prevent the accumulation of microdamage to minimize the possibility of bone fracture and keep mineral homeostasis of bone.

The bone remodeling mechanism includes complex processes that depend on factors like biochemical interactions, coordination of the basic multicellular unit (BMU) activities and the feedback from mechanical stimuli. The BMU is composed by osteoblasts and osteoclasts.

Achieving new insights about the bone remodeling machinery has been curtailed by the complexity of this mechanism. *In vivo* or *in vitro* tests alone fail to provide new hypotheses. To better understand this mechanism, it is useful to develop new mathematical models for the integration of theoretical knowledge in mathematical expressions that allow us to understand the most relevant interactions and to develop virtual simulations to formulate new hypotheses.

I present in this work, a review of some mathematical and computational models for the bone remodeling proposed to date. There are two areas of study for development of mathematical models: a mechanical level and metabolic level. Mathematical models developed at these two levels can aim at describing the behavior and function of bone remodeling. After that, a new mathematical model will be created and will includes mechanical and metabolic factors. Moreover, the simulation of different scenario like disease, treatment and mechanical stimulation will be simulated by the new mathematical model. The results generated by the new model are compared with the results of the models reviewed in this thesis. These comparisons show that the results are qualitatively similar between the new model and the model of the other authors.

Key-word: Bone remodeling; mathematical models; bone tissue; BMU; metabolic factors; mechanical factors.



# Índice

1) Introdução.....	13
2) Organização macroscópica do tecido ósseo .....	15
2.1) Características do esqueleto humano .....	15
2.2) Estrutura característica dos ossos longos .....	17
3) Organização microscópica do tecido ósseo.....	19
3.1) O tecido ósseo .....	19
3.2) As células especializadas e a sua fisiologia .....	20
3.3) Os sais e as moléculas relevantes em matriz óssea .....	23
4) Remodelação óssea .....	27
4.1) A importância da remodelação óssea .....	27
4.2) Mecanismo da remodelação óssea. ....	27
4.3) As sinalizações PTH, TGF- $\beta$ e o sistema de RANK–RANKL–OPG .....	29
5) Modelos matemáticos na área de remodelação óssea .....	31
5.1) Importância de modelos matemáticos.....	31
5.1.1) Tipos de abordagens matemáticas.....	32
5.1.2) Desenvolvimento de modelos matemáticos. ....	33
5.2) Modelos matemáticos abordados no projecto .....	36
5.3) Implementação do novo modelo .....	48
5.3.1) A proposta do novo modelo .....	48
5.3.2) Implementação do modelo matemático.....	51
5.4) Simulações e resultados .....	57
5.4.1) Comportamento estável da remodelação óssea .....	57
5.4.2) Simulação de doenças .....	59
5.4.3) Simulação de tratamentos terapêuticos .....	67
5.4.4) Simulação da aplicação de forças externas nos ossos .....	74
6) Conclusões .....	81
Bibliografia.....	85
Anexo .....	89



# Índice das imagens

Figura 2.1 – Estruturas de tecido ósseo: Osso trabecular e osso compacto (adaptado) [http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/CorePages/Bone/Bone.htm#labtrabecular]..	16
Figura 2.2 – Estrutura interna do osso (adaptado) [http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Bone_Development] .....	16
Figura 2.3 – Estrutura o osso longo .....	17
Figura 3.1 – Células especializadas do tecido ósseo (adaptado) .....	20
Figura 3.2. A linhagem de osteoclastos (adaptado) [Pérez-Sayáns et al., 2009] .....	21
Figura 3.3. A linhagem de osteoblastos (adaptado) [Raisz, 1999] .....	22
Figura 4.1 – O ciclo da remodelação óssea (adaptado) [Van't Hof e Ralston, 2001] .....	28
Figura 4.2 - O mecanismo da remodelação óssea a nível metabólica (adaptada) [Pivonka et al., 2008] .....	29
Figura 5.1.1 - Representação esquemática das interacções celulares em remodelação óssea. A) Vários estágios de diferenciação nas linhagens das MSC e das células estaminais hematopoéticas. B) Estudos adicionais necessários para compreender as interacções complexas que regulam as células do osso .....	34
Proposto por Pivonka e Komarova. (2010) .....	34
Figura 5.1.2 - Representação esquemática da relação entre o mundo real e os modelos. Proposto por Pivonka e Komarova. (2010) (adaptado) .....	35
Figura 5.2.1 - A estrutura básica do modelo proposto por Lemaire (2004) (adaptado) .	36
Figura 5.2.2 - A estrutura básica do modelo proposto por Pivonka (2008) (adaptado) .	41
Figura 5.2.3 – A variação da expressão de OPG e RANKL na linhagem de osteoblastos (adaptado) [Pivonka et al. 2008] .....	43
Figura 5.2.4 – Modelos extremos da expressão de OPG e RANKL (adaptado) [Pivonka et.al. 2008] .....	44
Figura 5.2.5 - A estrutura do modelo matemático proposto por Maldonado et al. (2006) (Adaptado) .....	46
Figura 5.2.6 – Interacções de remodelação óssea proposto por Maldonado et al. (2007) .....	48
Figura 5.3.1 - Adaptações de conceitos para formular o modelo a implementar .....	49
Figura 5.3.2 - A estrutura básica do modelo que se pretende implementar .....	50
Tabela 5.3.3 - Parâmetros adaptados à base dos parâmetros do Maldonado (2007) .....	55
Tabela 5.3.4 - Parâmetros adaptados à base dos parâmetros do Pivonka et. al. 2010 ....	56
Figura 5.4.1 - Gráficos que representam a simulação virtual de doença - diminuição de 90% de OPG durante 100 dias. a) Variação do volume ósseo ao longo do tempo. b) Variação da população de BMU normalizada ao longo do tempo. Pivonka et. al. (2010) (adaptado) .....	61
Figura 5.4.2 - Cronologia para a simulação da doença e do tratamento terapêutico .....	67
Figura 5.4.3 - Cronologia para a simulação de aplicação da carga externa .....	74





## Índice dos gráficos

Gráfico 5.4.1 - Variação da população BMU ao longo do tempo em condições normais .....	57
Gráfico 5.4.2 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo em condições normais..	57
Gráfico 5.4.3 - Rácio entre OCa e OBa (OCa/OBa) .....	58
Gráfico 5.4.4 - Variação do raio do osso ao longo do tempo em condições normais ....	58
Gráfico 5.4.5 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na ausência de 90% de OPG durante 100 dias .....	59
Gráfico 5.4.6 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na ausência de 90% de OPG durante 100 dias.....	60
Gráfico 5.4.7 - Variação da quantidade de OPG ao longo do tempo com a diminuição de 90% de OPG durante 100 dias.....	61
Gráfico 5.4.8 - Variação da RANKL livre ao longo do tempo na diminuição de 90% de OPG durante 100 dias.....	62
Gráfico 5.4.9 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na simulação da GIO durante 300 dias.....	63
Gráfico 5.4.10 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da GIO durante 300 dias.....	63
Gráfico 5.4.11 - Variação do rácio OCa/OBa ao longo do tempo na simulação da GIO durante 300 dias.....	64
Gráfico 5.4.12 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na simulação da senescência durante 300 dias.....	64
Gráfico 5.4.13 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da senescência durante 300 dias.....	65
Gráfico 5.4.14 - - Variação do rácio OCa/OBa ao longo do tempo na simulação da senescência durante 300 dias.....	65
Gráfico 5.4.15 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol durante 300 dias .....	66
Gráfico 5.4.16 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol.durante 300 dias .....	66
Gráfico 5.4.17 - Variação do rácio OCa/OBa ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol durante 300 dias .....	67
Gráfico 5.4.18 - Variação da população normalizada de BMU ao longo do tempo na simulação da GIO do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias .....	68
Gráfico 5.4.19 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da GIO e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias.....	69
Gráfico 5.4.20 - Variação do rácio OCa/OBa ao longo do tempo na simulação da GIO e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias.....	69
Gráfico 5.4.21 - Variação da dinâmica da remodelação óssea ao longo do tempo na simulação da GIO e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias.....	70
Gráfico 5.4.22 - Variação da população normalizada de BMU ao longo do tempo na simulação da senescência do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias.....	70
Gráfico 5.4.23 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da senescência e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias.....	71
Gráfico 5.4.24 - Variação do rácio OCa/OBa ao longo do tempo na simulação da senescência e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias.....	71

Gráfico 5.4.25 - Variação da dinâmica da remodelação óssea ao longo do tempo na simulação da senescência e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias.....	72
Gráfico 5.4.26 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias .....	72
Gráfico 5.4.27 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias .....	73
Gráfico 5.4.28 - Variação do rácio OCa/OBa ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias .....	73
Gráfico 5.4.29 - Variação da dinâmica da remodelação óssea ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias .....	74
Gráfico 5.4.30 - Variação da população de BMU normalizada face à presença de força externa que varia ao longo do tempo.....	75
Gráfico 5.4.31 - Variação da população de BMU face à presença de força externa que varia ao longo do tempo .....	75
Gráfico 5.4.32 - Variação da quantidade de osteócitos face à presença de força externa que varia ao longo do tempo .....	76
Gráfico 5.4.33 - Variação do raio do ósseo face à presença de força externa que varia ao longo do tempo .....	76
Gráfico 5.4.34 - Compação de resultados da variação do raio do osso na presença de força externa que varia ao longo do tempo simulado pelo modelo do Maldonado e o modelo corrente.....	77
Gráfico 5.4.35 - Comparação de resultados da variação da quantidade das células de OCa e de OBa na presença de força externa que varia ao longo do tempo, simulado pelo modelo do Maldonado e o modelo corrente .....	77
Gráfico 5.4.36 - Variação do raio do osso quando é submetido a estímulos mecânicos na presença de doenças. Simulado pelo modelo do Maldonado .....	78
Gráfico 5.4.37 - Variação do raio do osso quando é submetido a estímulos mecânicos na presença de doenças. Simulado pelo presente modelo .....	78
Gráfico 5.4.38 - Variação do raio do osso quando é submetido a estímulos mecânicos na presença de doenças. Simulado pelo presente modelo (adaptação da escala).....	79

## Lista de abreviaturas

BMU – *Basic multicellular units* - Unidade básica multicelular

BMP – *Bone morphogenetic proteins* - Proteínas morfogénicas de osso

Cbfa-1 - *core binding factor a1*- Factor de ligação de core a1

IGF-I - *Insulin-like growth factors-I* - Factor de crescimento semelhante à insulina 1

MSC – *mesenchymal stem cells* - Células estaminais mesenquimais

OPG – *osteoprotegerin* - Osteoprotegerina

PTH – *parathyroid hormone* - Paratormona

RANK - *receptor activator of nuclear factor kappa  $\beta$*  - Receptor de activação do factor nuclear kB (NF-kB)

RANKL - *receptor activator of nuclear factor kappa  $\beta$  ligand* - Ligando do receptor de activação do factor nuclear kB (NF-kB)

TGF- $\beta$  - *Transforming growth factor beta* - Factor de crescimento de transformação beta

PGE<sub>2</sub> - *Prostaglandin E2* - Prostaglandina E2

NO - *Nitric Oxide* - Óxido Nítrico

M-CSF – *macrophage colony stimulating factor* - Factor estimulação das colónias de macrófagos

c-FMS - *proto-oncogene FMS* - proto-oncogene FMS



# 1) Introdução

O osso é um tecido vivo com um comportamento extremamente dinâmico, reparando e readaptando a sua forma e estrutura consoante as necessidades mecânicas e fisiológicas [Maldonado et al., 2006; Martínez-Reina et al., 2009]. Esta adaptação é designada por remodelação óssea e consiste na reabsorção de osso antigo e na formação de osso novo. A remodelação óssea envolve vários processos e interações complexas, como os estímulos mecânicos, as interações moleculares e as interações das células responsáveis pela formação e pela reabsorção óssea. A remodelação óssea é efectuada pela unidade básica multicelular (*Basic Multicellular Units*) (BMU) que consiste em dois tipos de células: as células de osteoblasto são responsáveis pela formação óssea; e as células de osteoclasto são responsáveis pela reabsorção óssea. A remodelação óssea é relevante para a estrutura do osso, evitando a acumulação de danos microscópicos (microdanos, causado por fadiga ou impactos) e mantendo a homeostasia mineral (sobretudo de cálcio e de fosfato), minimizando assim a possibilidade de fractura do osso [Lemaire et al. 2004; Clarke, 2008; Pivonka et al., 2008].

As abordagens experimentais, *in vivo* e *in vitro*, não permitem obter informações suficientes para a compreensão global de um mecanismo complexo como a remodelação óssea [Pivonka et al., 2008]. Para este efeito, o desenvolvimento de modelos matemáticos torna-se útil para integrar os conhecimentos teóricos em expressões matemáticas e procurar preencher, deste modo, a lacuna entre as ideias teóricas e as observações clínicas e experimentais [Mogilner et al., 2006]. Assim, podem-se compreender quais as interações mais relevantes e efectuar simulações virtuais para formular novas hipóteses teóricas no mecanismo da remodelação óssea [Pivonka et al., 2009]

Em 1892, Julius Wolff propôs o relacionamento entre o estímulo mecânico com a arquitectura e estrutura interna do osso [García-Aznar et al., 2005; Martínez-Reina et al., 2009; Piotr Kowalczyk, 2010]. Em 1987, Frost propôs uma das primeiras abordagens teóricas ao funcionamento do osso, a denominada teoria do mecanostato [García-Aznar et al., 2005], que consiste nas adaptações da massa, da arquitectura interna e da dureza do osso face ao estímulo mecânico [Maldonado et al., 2006]. Desde então têm surgido uma grande quantidade de novos modelos detalhados da fisiologia óssea [García-Aznar et al., 2005].

Pretende-se, com o presente trabalho, fazer uma revisão de alguns modelos matemáticos e computacionais recentes destinados a simular o comportamento da remodelação óssea. Existem essencialmente duas áreas de estudo para desenvolvimento dos modelos matemáticos: modelos que estudam o comportamento mecânico do osso e modelos que estudam o comportamento metabólico do osso, envolvendo as análises de sinalizações e da população de

BMU. Os modelos matemáticos desenvolvidos permitem descrever o funcionamento da remodelação óssea, permitindo assim, simular o comportamento do osso e simular virtualmente as doenças para encontrar novas estratégias terapêuticas.

Os resultados produzidos através das simulações são apenas aproximações relativamente ao verdadeiro comportamento do osso, pelo que serão sempre necessárias comparações com resultados experimentais, para validar o desempenho do modelo.

## **2) Organização macroscópica do tecido ósseo**

### ***2.1) Características do esqueleto humano***

O esqueleto humano é constituído por dois tipos de tecidos conjuntivos, o tecido ósseo e o tecido cartilágneo [Williams et al., 1995]. O tecido ósseo apresenta várias funções como: suportar os músculos; servir de alavanca, permitindo o corpo movimentar-se e exercer-se com o auxílio de músculos; proteger e suportar os órgãos vitais e músculos; proteger a medula óssea (formadora de células sanguíneas); e servir de reservatório para iões como o cálcio (Ca) e fosfato (PO<sub>3</sub>) [Junqueira e Carneiro, 1999; Clarke, 2008].

A observação macroscópica do esqueleto humano permite distinguir quatro tipos de ossos: ossos longos, curtos, planos e irregulares. [Williams et al., 1995; Clarke, 2008]. Alguns ossos apresentam uma distribuição anisotrópica, sendo as partes mais densas direccionadas no sentido das cargas mais elevadas, como por exemplo o fémur [Martínez-Reina et al.; 2009].

O osso apresenta duas estruturas distintas que é possível observar a olho nu, uma estrutura designada por osso compacto ou cortical e outra designada por osso esponjoso ou trabecular [Williams et al., 1995]. O esqueleto humano adulto contém cerca de 80% de osso cortical e 20% de osso trabecular e a proporção entre estas duas estruturas ósseas presentes no osso, varia conforme o tipo de ossos. Por exemplo, as vértebras são ossos da coluna, que apresentam cerca de 25% de osso cortical e 75% trabecular, na cabeça do fémur apresenta 50% de osso cortical e trabecular, e na diáfise femoral apresenta uma proporção de 95% de osso cortical para 5% de ossos trabecular. A resistência do osso é determinada por vários factores como a geometria, a composição, a dimensão e a proporção do osso trabecular e do osso cortical [Clarke, 2008].

O osso cortical apresenta uma constituição sólida e densa, formando a superfície interior da cavidade da medula óssea [Clarke, 2008]. O osso trabecular apresenta uma arquitectura ramificada constituído por trabéculas (hastes microscópicas) [Clarke, 2008].

Os ossos corticais são constituídos por osteónio. O sistema de Havers ou osteónio cortical apresenta-se uma estrutura cilíndrica longa, constituída por várias camadas de lamelas ósseas concêntricas. O sistema de Havers é paralelo longitudinalmente à diáfise e encontra-se no seu interior o canal de Havers, que contém vasos sanguíneos e nervos. O canal de Volkmann é um canal transversal ou oblíquo que permite os canais de Havers comunicarem entre si, com a superfície externa do osso e com a cavidade medular [Junqueira e Carneiro, 1999; Clarke, 2008].



A figura 2.1 ilustra-se a organização do osso trabecular e do osso compacto do fêmur.

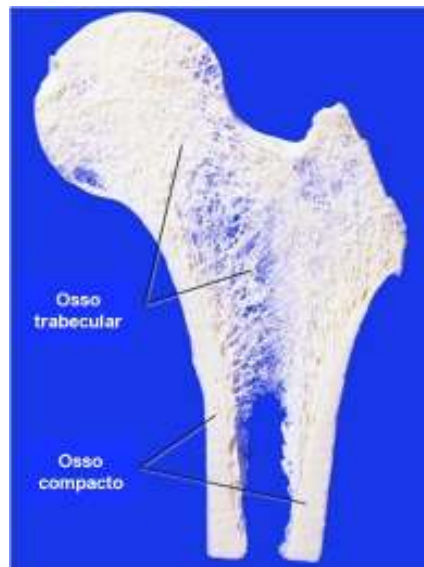


Figura 2.1 – Estruturas de tecido ósseo: Osso trabecular e osso compacto (adaptado)  
[<http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/CorePages/Bone/Bone.htm#labtrabecular>]

A figura 2.2 representa a organização da estrutura interna do osso.

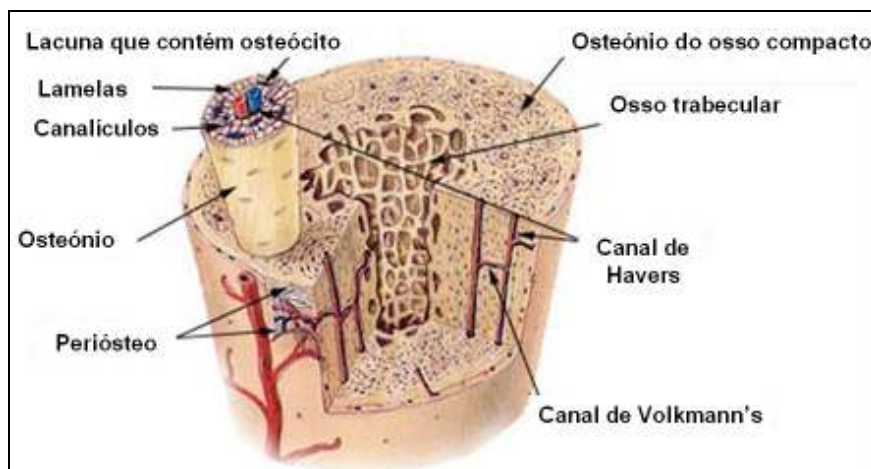


Figura 2.2 – Estrutura interna do osso (adaptado)  
[[http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Bone\\_Development](http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Bone_Development)]

## 2.2) Estrutura característica dos ossos longos

A estrutura do osso longo consiste em duas extremidades de forma irregular, designadas por epífises e o corpo central do osso longo designado por diáfise. As epífises são formadas por osso esponjoso e envolvida por uma camada fina de osso compacto, onde se associam os músculos e as articulações. A diáfise é formada essencialmente por osso compacto e com uma pequena quantidade de ossos esponjosos. No interior da diáfise há uma cavidade onde se encontra a medula óssea, envolvida pela superfície interna da cavidade medular designada por endóstio. A superfície externa do osso, designada por perióstio, é revestida pelo tecido ósseo maduro [Williams et al., 1995; Junqueira e Carneiro, 1999; Clarke, 2008]. A figura 2.3 consiste numa representação de um osso longo (fêmur), onde está ilustrado a estrutura descrita.

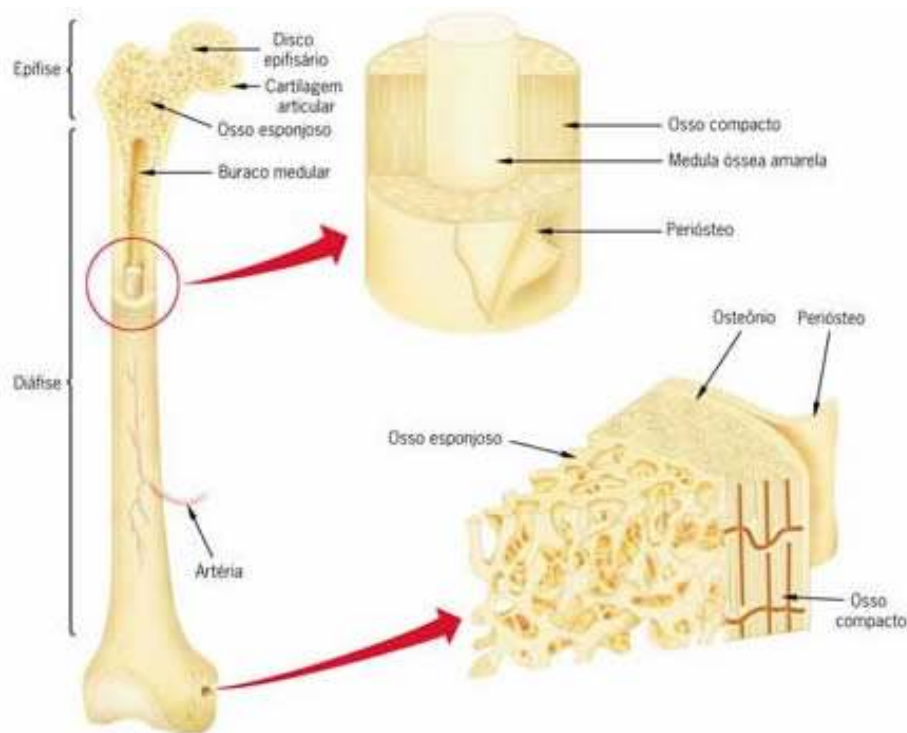


Figura 2.3 – Estrutura o osso longo

[[http://websmed.portoalegre.rs.gov.br/smed/inclusaodigital/atividades\\_educativas/debora\\_conforto/locomotor/imagens/osso\\_camadas.jpg](http://websmed.portoalegre.rs.gov.br/smed/inclusaodigital/atividades_educativas/debora_conforto/locomotor/imagens/osso_camadas.jpg)]



### 3) Organização microscópica do tecido ósseo

#### 3.1) O tecido ósseo

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado constituído pela matriz extracelular calcificada e por células especializadas [Junqueira e Carneiro, 1999]. A matriz óssea é constituída por minerais e material orgânico como o colagénio do tipo I [Clarke, 2008].

As células especializadas encontradas no tecido ósseo, são os osteoblastos, osteoclastos e osteócitos, apresentando entre elas funções únicas e relevantes para a remodelação óssea [Junqueira e Carneiro, 1999]. Os osteoblastos são células responsáveis pela formação óssea e os osteoclastos são células responsáveis pela reabsorção do osso antigo. Os osteócitos estão situadas entre as lamelas, tem como função de “sensor” que são estimuladas através de forças externas para sinalizar o mecanismo remodelação óssea [Maldonado et al., 2006; Maldonado et al., 2008]. Os osteócitos comunicam entre eles através de canaliculos [Junqueira e Carneiro, 1999].

O osso é constituído por 20 a 40 % pela matriz orgânica, 50 a 70 % de minerais, e 5 a 10 % de água. A parte orgânica da matriz extracelular é constituída por 85% a 90 % proteínas colagénio, sobretudo colagénio do tipo I, e os restantes são constituídas por proteínas não colagénio como proteoglicanos e osteocalcina [Clarke, 2008].

Os minerais presentes nos ossos são responsáveis pela dureza e da rigidez do osso e a parte orgânica é responsável pela elasticidade e flexibilidade do osso [Clarke, 2008].

A mineralização óssea consiste na deposição de iões inorgânicos, principalmente Cálcio (Ca) e Fósforo ( $\text{PO}_3$ ), na matriz orgânica [Junqueira e Carneiro, 1999]. A estrutura mineral mais abundante no osso está em estrutura cristalina de hidroxiapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) [Clarke, 2008].

A matriz óssea é um reservatório que permite armazenar vários tipos de proteínas incluindo hormonas de crescimento como o *Transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) e *Insulin-like growth factors* (IGF) [Clarke, 2008, Pivonka et. al., 2010].

### 3.2) As células especializadas e a sua fisiologia

As células especializadas que se encontram no tecido ósseo, apresentam funções relevantes em remodelação óssea, são: os osteócitos, os osteoblastos, os osteoclastos e as células de revestimento ósseo. A figura 3.1 ilustra as células especializadas presentes no tecido ósseo.

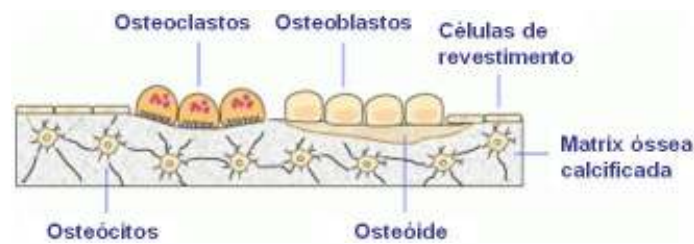


Figura 3.1 – Células especializadas do tecido ósseo (adaptado)

[<http://www.iofbonehealth.org/health-professionals/about-osteoporosis/basic-bone-biology.html>]

#### Osteoclastos

Os osteoclastos são células multinucleadas, de grande dimensão e extensamente ramificadas [Williams et al., 1995; Junqueira e Carneiro, 1999], que se originam a partir de células hematopoiéticas pluripotentes [Yavropoulou e Yovos, 2008], de linhagem monócito-macrofágica [Clarke, 2008].

A linhagem de osteoclastos é regulada pelos factores M-CSF e RANKL, produzidos principalmente pelas células de osteoblastos. Os osteoclastos activos são células multinucleadas originados através da fusão de várias células precursoras de osteoclastos, sendo estes mononucleares. O factor RANKL estimula as células precursoras de osteoclastos para a formação de osteoclastos activos. M-CSF é um factor relevante para a sobrevivência, a proliferação e a diferenciação das células precursoras de osteoclastos [Clarke, 2008; Yavropoulou e Yovos, 2008]. O factor M-CSF estabelece a ligação com os receptores c-FMS presentes na superfície das células precursoras de osteoclastos [Yavropoulou e Yovos, 2008].

As células de osteoclastos têm como função a reabsorção óssea através da desmineralização e destruição da parte orgânica do osso. O mecanismo do osteoclasto para a reabsorção óssea realiza-se através das segregações de iões de hidrogénio, que dissolvem os minerais da matriz óssea, e da enzima catepsina K, que destrói a matriz formada por colagénio do tipo I [Clarke, 2008]. A superfície da célula precursora de osteoclasto contém o receptor activador do factor nuclear kappaB (RANK). A activação das células de osteoclasto para a reabsorção óssea consiste na ligação entre RANK e RANKL, formando o complexo RANK-

RANKL [Lemaire et al., 2004; Pivonka et. al., 2010]. No capítulo 4.3 aborda informações mais detalhadas sobre o sistema de RANK-RANKL-OPG.

A figura 3.2 ilustra a evolução da linhagem osteoclastos.

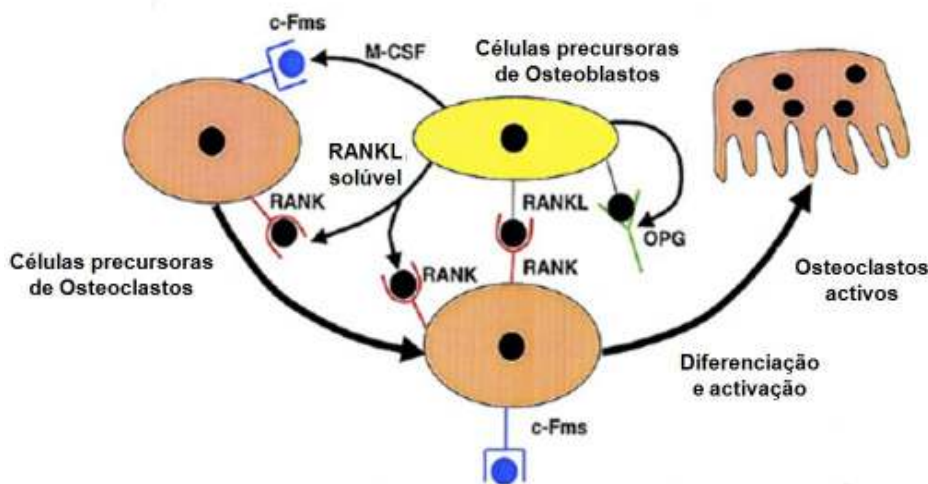


Figura 3.2. A linhagem de osteoclastos (adaptado) [Pérez-Sayáns et al., 2009]

## Osteoblastos

As células de osteoblastos têm origem de células estaminais mesenquimais (MSC) [Deschaseaux et al., 2009]. As células de osteoblastos exibem uma forma cubóide, com diâmetro entre 15 – 30  $\mu\text{m}$  e encontram-se nas superfícies do osso em remodelação ou em maturação [Williams et al., 1995]. Estas células são responsáveis pela formação da estrutura óssea. A parte orgânica, sintetizada pelos osteoblastos, distingue-se em proteínas colagénio (colagénio do tipo I) e em proteínas não colagénio (proteoglicanas, glicoproteínas adesivas e osteocalcina) que constituem a matriz óssea [Junqueira e Carneiro, 1999; Clarke, 2008].

O processo da formação de osteoblastos, designado por osteoblastogénese, inicia-se através do factor *bone morphogenetic protein* (BMP), sendo este o único factor conhecido que compromete as células MSC na linhagem de células de osteoblastos [Manolagas, 2000]. O BMP é o factor que estimula a produção de *core binding factor al1* (Cbfa-1), sendo este último um factor relevante na diferenciação de osteoblastos [Manolagas, 2000].

Quando termina a formação óssea, cerca de 50% a 70% dos osteoblastos entram em apoptose e os restantes 30% a 50% de osteoblastos diferenciam-se em osteócitos ou em células de revestimento [Clarke, 2008]. A figura 3.3 ilustra a linhagem de osteoblastos.

A superfície dos osteoblastos, apresenta moléculas relevantes para o mecanismo da remodelação óssea, como os receptores de PTH para ligar com a paratormona (PTH) e o

ligando do receptor activador do factor nuclear kappaB (RANKL) [Patrício et. al., 2006]. O RANKL, que tem como função iniciar a actividade e manter a viabilidade dos osteoclastos, pode apresentar-se como uma molécula transmembranar ou como uma molécula livre,. A osteoprotegerina (OPG), antagonista de RANK, tem como função inibir a diferenciação dos osteoclastos, efectuando a ligação com o RANKL [Lemaire et al., 2004; Clarke, 2008; Pivonka et al., 2008; Pivonka et al., 2010]

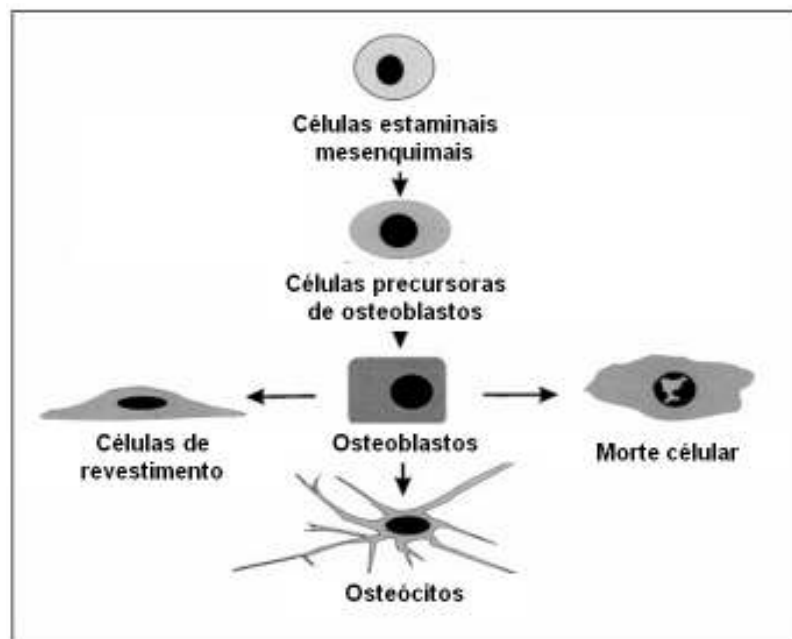


Figura 3.3. A linhagem de osteoblastos (adaptado) [Raisz, 1999]

### Osteócitos

Os osteócitos são uma das últimas diferenciações dos osteoblastos, caracterizando-se pela imobilização e envolvimento pela matriz óssea mineralizada (quando a matriz óssea se encontra recém-formada e não mineralizada é designado osteóide). O espaço preenchido pelo osteócito é designado pela lacuna, sendo este ocupado por um único osteócito [Williams et al., 1995; Junqueira e Carneiro, 1999]. Os osteócitos são as células mais abundantes presentes no tecido ósseo, chegando a atingir cerca 10 vezes mais a quantidade de osteoblastos [Manolagas, 2000]. Os osteócitos estabelecem comunicação através de canalículos, canais que ligam entre lacunas, para comunicar entre si e com a superfície do osso [Manolagas, 2000; Clarke, 2008].

Os osteócitos exercem uma função muito importante, pois comportam-se como sensores relativamente aos estímulos mecânicos externos. Quando os osteócitos são estimulados, liberta-

se monóxido de azoto (NO) e Prostaglandina E2 (PGE<sub>2</sub>) que são factores que influenciam o sistema de RANKL-OPG-RANK, promovendo a formação óssea através da inibição da formação de osteoclastos [Maldonado et al., 2006; Maldonado et al., 2008]. Assim, desde que a força externa aplicada não exceda a capacidade da resistência do osso, desencadeia-se o crescimento ou reabsorção óssea, consoante os estímulos recebidos [Maldonado et al., 2006].

### **As células de revestimento ósseo**

As células de revestimento são originadas a partir das células de osteoblastos. Têm uma forma achatada e alongada. Em tecido ósseo que não se apresenta actividade de remodelação óssea, as células de revestimento são cobertos por uma camada de matriz de colagénio não mineralizada com uma espessura entre 1 a 2 µm. A superfície não mineralizada inibe a adesão de osteoclastos, uma vez que os osteoclastos só se aderem em superfícies mineralizadas [Manolagas, 2000].

As principais funções destas superfícies são o controlo do fluxo de minerais entre o tecido ósseo e o fluido extracelular, formando uma barreira entre osso e o fluido extracelular [Clarke, 2008].

## ***3.3) Os sais e as moléculas relevantes em matriz óssea***

### **Os sais presentes na matriz óssea**

Os sais presentes no osso constituem a parte inorgânica da matriz óssea, onde o cálcio e o fósforo se encontram em maior quantidade. O osso contém ainda uma quantidade mais baixa de magnésio, o flúor, sódio, zinco, ferro e cobre [Williams et al., 1995].

O cálcio (Ca) é um dos minerais mais abundantes do osso, cerca de 99 % do Ca encontra-se no osso com uma massa equivalente a 1000 g a 1500 g no corpo adulto (pode variar consoante o género, a etnia e o volume corporal). O Fósforo (P) é o segundo elemento mais abundante no tecido ósseo, pode ser prejudicial em quantidades excessivas [Ilich e Kerstetter, 2000]. O cálcio e o fósforo são armazenados nos ossos sob a forma de hidroxiapatite (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>) sendo esta estrutura cristalina o mineral mais abundante do osso que contribui para a sua dureza [Junqueira e Carneiro, 1999; Clarke, 2008].



Existem cerca de 25 g de magnésio (Mg) no corpo humano, dois terços dos quais se encontram nos ossos e as restantes nos tecidos moles. A ausência de Mg pode alterar o metabolismo do cálcio, comprometendo a secreção de PTH, provocando hipocalcemia (baixo nível de cálcio presente na corrente sanguínea). Segundo estudos realizados nos animais, a deficiência de Mg resulta na redução da dureza e do volume ósseo, e a descoordenação da formação e reabsorção óssea. Baseando estes factos, associa-se a deficiência de Mg como um dos factores de risco da osteoporose [Ilich e Kerstetter, 2000].

O flúor (F) é um elemento que é absorvido facilmente pelo corpo. Apresenta uma grande afinidade relativamente a ossos, especialmente na fase de desenvolvimento. A acumulação excessiva do F pode ser tóxica. O flúor pode substituir o cálcio e incorporar-se na estrutura de hidroxiapatite, aumentando o tamanho da estrutura cristalina. Este processo diminui a solubilidade dos cristais de hidroxiapatite, uma vez que a actividade de reabsorção de osteoclastos é menos eficaz com cristais de maior dimensão. Graças a este efeito os suplementos de flúor são utilizados no tratamento de doenças como a osteoporose. Por outro lado, se os cristais se tornarem excessivamente grandes, podem formar-se ossos frágeis [Ilich e Kerstetter, 2000].

## **Vitamina D**

A vitamina D (calciferol) pode ser ingerida através do consumo de alguns alimentos específicos como ovos, fígado e suplementos de vitamina D. Por outro lado, a pele sintetiza a vitamina D na exposição solar moderada [Ilich e Kerstetter, 2000; Clarke, 2008].

Através de processos metabólicos efectuados pelo fígado e rins, a vitamina D é convertida na forma biologicamente activa, denominada por 1,25-dihidroxitamina D (1,25-(OH)<sub>2</sub>D) ou calcitriol. A 1,25-(OH)<sub>2</sub>D apresenta os seguintes efeitos no metabolismo: estimulação da mineralização em matriz óssea não mineralizada; manutenção adequada da concentração de cálcio e fósforo, para permitir uma mineralização passiva em matrizes não mineralizadas; estimulação da absorção intestinal do cálcio e do fósforo; promoção da diferenciação de células de osteoblastos e a estimulação destas células para a expressão de moléculas relevantes na remodelação óssea [Clarke, 2008]. Quando insuficiente, a vitamina D pode causar deficiência em mineralização óssea podendo desencadear raquitismo em crianças e osteomalacia em adultos [Ilich e Kerstetter, 2000].

### **Paratormona (PTH)**

A paratormona (PTH), produzida na glândula paratiroide, tem como função prevenir a hipocalcemia. A PTH é segregada quando se verifica o decréscimo da concentração de cálcio no sangue, promovendo indirectamente a reabsorção óssea [Ilich e Kerstetter, 2000; Komarova, 2005]. A PTH regula a homeostasia do cálcio e o mecanismo da remodelação óssea. A paratormona estimula indirectamente os osteoclastos para a reabsorção óssea, uma vez que estes não apresentam receptores para PTH. A PTH liga-se aos receptores de PTH presentes na superfície das células de osteoblastos, para estimular a expressão de RANKL e inibir a produção de OPG. Deste modo favorece a interacção de RANKL-RANK que promove a actividade dos osteoclastos na reabsorção óssea [Lemaire et al. 2004; Komarova, 2005; Pivonka et. al., 2010].

### ***Transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ )***

TGF- $\beta$  é depositado na matriz óssea durante a formação óssea através dos osteoblastos e é libertado durante a reabsorção óssea através de osteoclastos [Lemaire et al. 2004; Kingsley et al. 2007]. TGF- $\beta$  apresenta efeitos diferentes ao estabelecer ligação com as células da linhagem de osteoblastos e de osteoclastos. Consoante o grau de maturação dos osteoblastos, o TGF- $\beta$  promove a diferenciação de osteoprogenitores em células precursoras de osteoblastos (ROB), inibe a diferenciação de células precursoras de osteoblastos em osteoblastos activos (AOB) [Lemaire et al. 2004; Pivonka et. al., 2008] e diminui a produção de RANKL, promovendo a diminuição de osteoclastos [Clarke, 2008]. Relativamente aos osteoclastos, o TGF- $\beta$  promove a apoptose de osteoclastos activos (AOC) [Lemaire et al. 2004; Pivonka et. al., 2008].

### ***Insulin-like growth factors-I (IGF-I)***

O factor de crescimento IGF-I é produzida pelo fígado e pelo osteoblasto que é controlado pelo PTH. O IGF-I promove a proliferação de osteoblastos, promove o desempenho dos osteoblastos maduros e influencia a produção de colagénio do tipo I. Por outro lado, estimula a produção de RANKL que promove a maturação de osteoclastos [Giustina et. al., 2008].

### ***Core binding factor $\alpha 1$ (Cbfa-1)***

Cbfa-1 também conhecido por Runx2 é um marcador relevante na iniciação, proliferação e maturação da osteoblastogénese [Deschaseaux et al., 2009; Jensene et al., 2010] e influência em osteoblastos maduros na deposição da matriz óssea [Deschaseaux et al., 2009]. Cbfa-1 activa vários genes específicos dos osteoblastos como colagénio do tipo I [Manolagas, 2000]. Os ratos com deficiência de Cbfa-1 não apresentam osteoblastos, do que resultam deficiências na formação óssea [Deschaseaux et al., 2009].

### ***Macrophage colony stimulating factor (M-CSF)***

O factor M-CSF é relevante para a sobrevivência de osteoclastos. Promove a proliferação e previne a apoptose precoce das células precursoras de osteoclastos. M-CSF estabelece a ligação com os osteoclastos através dos respectivos receptores designados por c-FMS. Estes receptores estão presentes na superfície das células precursoras de osteoclastos [Yavropoulou e Yovos, 2008].

### ***Nitric Oxide (NO)***

Na remodelação óssea o NO (óxido nítrico) promove a formação óssea através da estimulação da produção de OPG e do impedimento da produção de RANKL. O NO é libertado pelos osteócitos quando recebem estímulos mecânicos [Maldonado et al. 2006; Maldonado et al. 2008].

### ***Prostaglandin E2 (PGE<sub>2</sub>)***

A PGE<sub>2</sub> na remodelação óssea tem como efeito promover a formação óssea através da estimulação das células progenitoras de osteoblastos. A PGE<sub>2</sub> é libertada pelos osteócitos quando são estimulados mecanicamente [Maldonado et al. 2006; Maldonado et al. 2008].

## **4) Remodelação óssea**

### ***4.1) A importância da remodelação óssea***

A remodelação óssea consiste na manutenção da resistência óssea e na homeostasia mineral, iniciando-se antes do nascimento do indivíduo até à sua morte [Clarke, 2008]. A integridade e a dureza do esqueleto depende da remodelação óssea sendo um processo contínuo e complexo que envolve mecanismos de reabsorção e de formação óssea [Yavropoulou e Yovos, 2008]. A remodelação óssea é um mecanismo que previne a acumulação de microdanos (devido à fadiga e choques) e a homeostasia mineral (sobretudo de cálcio e de fosfato), minimizando a possibilidade de fractura do osso [García-Aznar et. al., 2005; Clarke, 2008].

A remodelação óssea depende de factores biológicos e mecânicos. Quando o osso é submetido a forças externas (forças que não excedam a capacidade do osso), o tecido ósseo é capaz de adaptar de modo contínuo a sua estrutura, arquitectura, massa e dureza, face aos estímulos mecânicos [Maldonado et al., 2006; Li et al., 2007]. O factor biológico envolve processos metabólicos complexos, moléculas e iões relevantes para o mecanismo da remodelação óssea. Este mecanismo é executado através da unidade básica multicelular (BMU) sendo composto por células de osteoclastos, que têm como função a reabsorção óssea, e por células de osteoblastos para a formação óssea [García-Aznar et. al., 2005; Clarke, 2008].

Quando o mecanismo de remodelação óssea entra em desequilíbrio, podem ocorrer patologias no ser humano como a osteoporose, doença de Paget e artrite reumatóide. [Pivonka et. al., 2010].

### ***4.2) Mecanismo da remodelação óssea.***

A remodelação óssea consiste em 4 fases, seguindo-se a respectiva sequência: repouso, reabsorção, reversão e formação. A figura 4.1 ilustra o ciclo da remodelação óssea [Van't Hof e Ralston, 2001].

O ciclo da remodelação óssea inicia-se a partir da fase de repouso. No local onde é efectuada a remodelação óssea encontram-se células de revestimento. Em seguida, dá-se a activação de osteoclastos que consiste no recrutamento e na activação de células mononucleares precursoras de osteoclastos. Durante a activação de osteoclastos ocorrem também: o afastamento das células de revestimento que cobrem a matriz óssea mineralizada; a fusão das células

mononucleares precursoras de osteoclastos para a formação da célula multinuclear precursora osteoclasto; e a ligação das células multicelulares precursoras de osteoclastos à matriz óssea. O período da fase de reabsorção é entre 2 a 4 semanas, efectuado pelos osteoclastos que desmineraliza e degrada a matriz orgânica através de iões  $H^+$  e enzima catepsina K, respectivamente, criando uma lacuna que é designado por lacuna de *Howship* [Clarke, 2008]. Durante a fase de reabsorção o TGF- $\beta$  é libertado da matriz óssea através da actividade de osteoclastos [Lemaire et al. 2004; Kingsley et al. 2007]. A fase de reversão ocorre durante a transição entre a fase de reabsorção e a fase de formação, encontram-se na lacuna de *Howship* osteócitos não envolvidos pela matriz óssea e células precursoras de osteoblastos (ROB). Este último é recrutado para iniciar a formação óssea [Clarke, 2008].

A fase de formação tem uma duração entre 4 a 6 meses, os osteoblastos activos (AOB) sintetizam a matriz orgânica e controlam a mineralização. Na fase final de formação óssea, maior parte dos osteoblastos entram em apoptose (50% a 70%), os restantes diferenciam-se em osteócitos ou em células de revestimento [Clarke, 2008].

Após a fase da formação, começa a fase de repouso até à próxima da remodelação óssea.

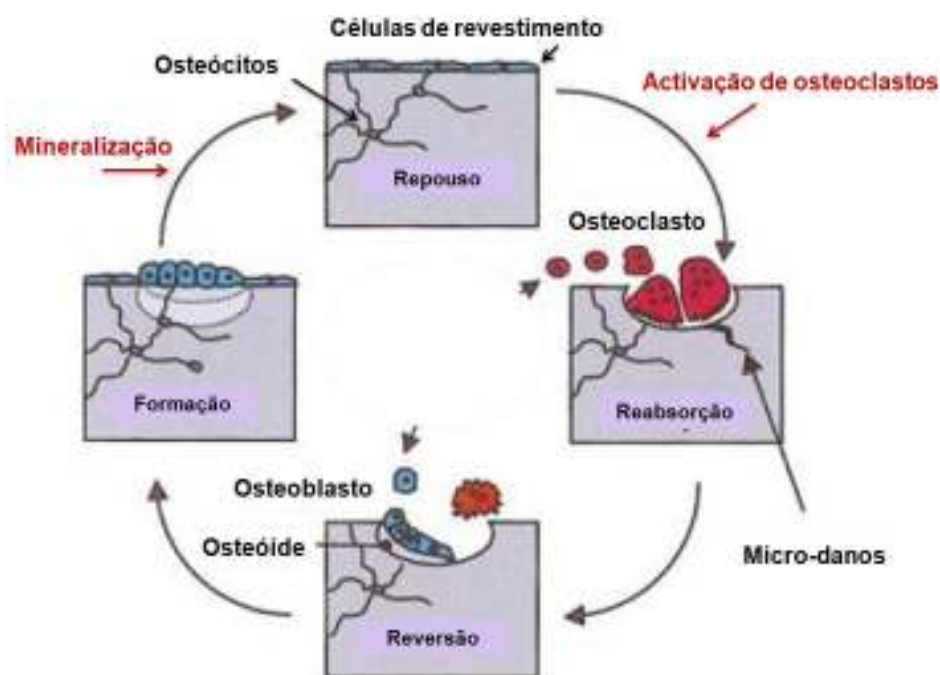


Figura 4.1 – O ciclo da remodelação óssea (adaptado) [Van't Hof e Ralston, 2001]

### 4.3) As sinalizações PTH, TGF- $\beta$ e o sistema de RANK–RANKL–OPG

O ciclo da remodelação óssea é controlado através de sinalizações como PTH, TGF- $\beta$  e o sistema de RANK–RANKL–OPG. Estas sinalizações regulam o desenvolvimento das linhagens das células de osteoblasto e de osteoclasto, responsáveis pela formação e pela reabsorção óssea. A evolução dos osteoblastos consiste em 4 fases: diferenciação das células progenitoras para células precursoras de osteoblastos (ROB), seguida da maturação destas células em osteoblastos activos (AOB) e por fim a formação de osteócitos ou células de revestimento ou a apoptose dos osteoblastos. Na evolução dos osteoclastos consideram-se 3 fases para o mecanismo: células precursoras de osteoclastos (ROC), a maturação das células em osteoclastos activos (AOC) e a apoptose dos osteoclastos. Os mecanismos de formação e reabsorção óssea são efectuados pelas respectivas células de osteoblastos activos e de osteoclastos activos [Lemaire et al. 2004; Pivonka et. al., 2008].

A figura 4.2 ilustra o mecanismo proposto por Lemaire et al. (2004).

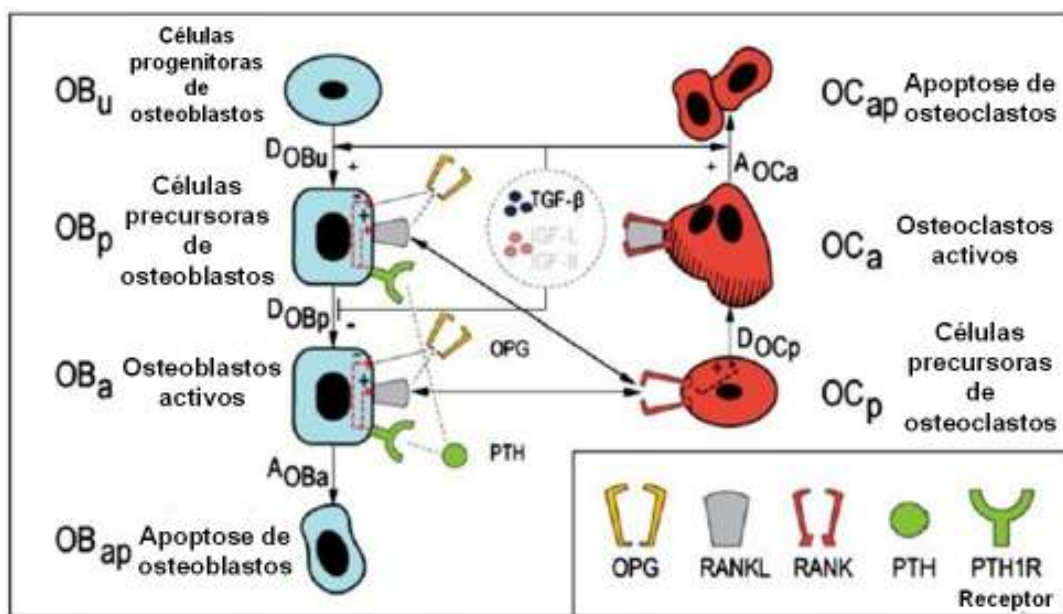


Figura 4.2 - O mecanismo da remodelação óssea a nível metabólica (adaptada) [Pivonka et al., 2008]

Na fase de reabsorção, a interacção RANK-RANKL promove a diferenciação e activação das células precursoras de osteoclastos em células de osteoclastos activos para efectuar reabsorção da matriz óssea. Durante este processo, liberta-se TGF- $\beta$  que exibem efeitos diferentes ao estabelecer ligação com as células especializadas, apresentando os seguintes efeitos: promoção da diferenciação de progenitores de osteoblastos em células precursoras de

osteoblastos (ROB); inibição da diferenciação de células precursoras de osteoblastos em células de osteoblastos activos (AOB); e a promoção de apoptose de células de osteoclastos activos (AOC). A diferenciação de células precursoras de osteoblastos (ROB) em células de osteoblastos activos ocorre quando TGF- $\beta$  se torna inactivo [Lemaire et al. 2004; Pivonka et al., 2008].

OPG, antagonista de RANK, é produzida e libertada pelo osteoblasto para se ligar ao RANKL formando o complexo OPG-RANKL. Esta ligação inibe a formação do complexo RANK-RANKL que impede a diferenciação de células precursoras de osteoclastos em células de osteoclastos activos [Lemaire et al. 2004; Pivonka et al., 2008]. A diferenciação de ROB em AOB ocorre quando o TGF- $\beta$  é removido ou se encontra inactivo [Pivonka et. al., 2008].

PTH tem como a função de manter a homeostasia de cálcio, promovendo indirectamente a reabsorção óssea. A ligação entre PTH e PTH1R (receptores de PTH) presentes na superfície das células de osteoblastos, promove a expressão de RANKL e inibe a produção de OPG. Assim, favorece a interacção de RANK-RANKL que promove a actividade dos osteoclastos na reabsorção óssea

## 5) Modelos matemáticos na área de remodelação óssea

### 5.1) Importância de modelos matemáticos

O funcionamento da biologia celular apresenta comportamentos complexos e de diferentes escalas (celular e molecular) em termos de tempo e de espaço. A utilização de modelos matemáticos permite preencher as lacunas entre os resultados clínicos e as novas hipóteses teóricas [Mogilner et al., 2006].

O mecanismo da remodelação óssea envolve processos complexos que dependem de vários factores como as interações bioquímicas, coordenações das actividades de osteoblastos e osteoclastos [Lemaire et al. 2004], e respostas aos estímulos mecânicos [Maldonado et. al., 2006]. A utilização de modelos matemáticos torna-se uma ferramenta relevante para distinguir as causas e os efeitos presentes no mecanismo complexo da remodelação óssea. Os modelos matemáticos, permitem converter e integrar os conhecimentos existentes e dados experimentais em expressões matemáticas, para simular novas hipóteses teóricas. Estas hipóteses teóricas não são possíveis de realizar *in vivo* ou *in vitro* [Pivonka et. al. 2008; Pivonka et. al. 2010].

Surgiram até à data, vários modelos matemáticos destinados à simulação do mecanismo da remodelação óssea. Incidiram em determinados âmbitos específicos, como o estudo do sistema RANKL-RANK-OPG [Lemaire et al. 2004]; do efeito de PTH em remodelação óssea [Komarova, 2005]; da coordenação das células de osteoblastos e osteoclastos; da relação entre a remodelação óssea e danos microscópicos [Martínez-Reina et al. 2009]; do comportamento da remodelação óssea perante os estímulos mecânicos [Maldonado et al. 2006], entre outros.

As simulações dos modelos matemáticos podem ser úteis para melhorar a qualidade da saúde humana através da simulação de doenças associadas ao esqueleto, estabelecendo as causas das doenças e deste modo levar ao desenvolvimento de fármacos eficientes [Lemaire et al. 2004]; também permite construir próteses mais adequadas [Pawlikowski et al., 2008], prever a estrutura interna e a forma do osso [Jang e Kim, 2009] e programar actividades personalizadas para fortalecer a estrutura óssea, com o objectivo de diminuir o risco de fractura óssea [García-Aznar et al., 2005].



### 5.1.1) Tipos de abordagens matemáticas

Existem vários tipos de abordagens matemáticas em biologia celular: equações algébricas, equações diferenciais ordinárias, equações diferenciais parciais e simulações de Monte-Carlo [Mogilner et al., 2006].

As equações algébricas são consideradas matematicamente menos complexas relativamente a outros tipos de abordagens. Os biólogos têm maior facilidade em dominar as equações algébricas, sendo estas uma ferramenta matemática útil e simples [Mogilner et al., 2006].

As equações diferenciais ordinárias são equações que envolvem apenas funções e derivadas das funções de uma só variável [Azenha e Jerónimo, 1995]. É o tipo de abordagem mais utilizado para modelar em sinalizações celulares e mecanismos metabólicos. A utilização deste tipo de abordagem é útil quando se identifica os interruptores biológicos (promoção e inibição) e que possa excluir os efeitos estocásticos (casos particulares que depende do acaso). As equações diferenciais ordinárias permitem descrever a evolução das variáveis ao longo do tempo [Mogilner et al., 2006].

As equações diferenciais parciais são mais complexas do que as equações diferenciais ordinárias. Pois, a função solução de uma equação diferencial parcial depende de mais do que uma variável [Azenha e Jerónimo, 1995]. As equações diferenciais parciais são utilizadas em modelos cuja dinâmica depende da heterogeneidade espacial do sistema [Mogilner et al., 2006].

As experiências *in silico* permitem a confirmação da plausibilidade do modelo ou a exploração de fenómenos complexos. Os modelos computacionais são construídos através de códigos computacionais baseados em conhecimentos teóricos. Em seguida, analisar os comportamentos do modelo e atingir aproximações satisfatórias [Mogilner et al., 2006]. Os modelos implementados por códigos computacionais apresentam vantagens nos cenários que envolvem informações discretas dos componentes dos elementos que não se pode ignorar. Para estes casos, apresenta-se limitações nas aproximações efectuadas pelas equações diferenciais ordinárias e equações diferenciais parciais. As simulações computacionais são úteis para o estudo do relacionamento entre comportamentos microscópicos e macroscópicos, uma vez que são difíceis de obter resultados em laboratórios [Mogilner et al., 2006].

### 5.1.2) Desenvolvimento de modelos matemáticos.

O modelo matemático pode assistir a formulação de hipóteses e através da análise de resultados de experiências permite distinguir diversos mecanismos e determinar quais dos mecanismos mais relevantes. O modelo matemático é considerado como a "ferramenta de síntese", pois permite combinar informações e elementos distintos formando conceitos coerentes e reconstruindo o funcionamento do osso. Os modelos utilizados em biologia são representados de modo simplificado relativamente à realidade [Pivonka e Komarova, 2010].

A investigação biomédica, incluindo a biologia óssea, avança através da formulação de hipóteses. Isto é, dentro de determinadas condições permite prever o comportamento do sistema biológico. Para que as hipóteses sejam viáveis, é necessário simplificar e reduzir a complexidade do fenómeno real (sistema biológico) e construir um modelo conceitual (ideia esquematiza do modelo) baseado nas relações e nas interligações lógicas entre os componentes relevantes do sistema biológico. Um modelo matemático é utilizado para formular hipóteses específicas, de acordo com os componentes do modelo conceitual, e testá-las em condições específicas, como por exemplo, interferir nas sinalizações de um mecanismo e analisar o seu comportamento. Os resultados experimentais podem estar de acordo ou não com as hipóteses estabelecidas, o que permite reajustar e refinar o modelo conceitual. Deste modo, proporciona uma grande quantidade de observações de aspectos diferentes sobre o funcionamento do osso, sendo cada observação uma peça de um grande *puzzle* - o comportamento do sistema ósseo. É importante conseguir visualizar o modelo conceitual como "um todo" para integrar as "peças individuais" no sistema. Um exemplo de modelo conceitual no estudo dos ossos é a teoria do mecanostato proposta por H. Frost que é originada pela lei de *Wolff* sobre a adaptação óssea face à carga mecânica. A teoria do mecanostato defende que "o osso saudável irá adaptar-se consoante a força que é aplicada". O modelo conceitual segue esta teoria e assume que as cargas mecânicas são detectadas pelo tecido ósseo e o comportamento das células do osso é influenciado pelos estímulos biomecânicos. Consoante os estímulos recebidos, o osso terá as respectivas respostas (*feedback*) e irá proporcionar alterações da massa e da dureza óssea face ao ambiente e às necessidades mecânicas [Pivonka e Komarova, 2010].

#### **Modelos experimentais: modelos *in vivo* e *in vitro***

Quando o modelo conceitual for estabelecido e as hipóteses específicas formuladas, selecciona-se o sistema experimental mais adequado para testar as hipóteses em questão. O maior objectivo em causa é compreender o funcionamento do osso no ser humano. No entanto,

não se pode utilizar directamente o ser humano como um objecto experimental. O sistema experimental pode ser distinguido em dois tipos de modelos: o modelo *in vivo* que representa o funcionamento do organismo como um todo e o modelo *in vitro* que representa o funcionamento de algumas partes relevantes fora do organismo [Pivonka e Komarova, 2010].

A modelação matemática é uma ferramenta para formalizar o modelo conceitual de acordo com as hipóteses propostas, simular experimentalmente estas hipóteses *in silico* e prever os resultados experimentais segundo o modelo conceitual estabelecido. O modelo matemático é utilizado para estabelecer ligação entre o modelo conceitual e os testes experimentais [Pivonka e Komarova, 2010].

Um dos problemas mais comuns dos biólogos, nos modelos matemáticos, são os parâmetros porque não são possíveis de estimar directamente baseando-se nos dados experimentais disponíveis. Quando os experimentalistas efectuem estudos via *in vivo* ou *in vitro*, estão a lidar com inúmeros parâmetros e factores que permanecem completamente desconhecidos [Pivonka e Komarova, 2010]. A figura 5.1.1 representa esquematicamente as interacções celulares em remodelação óssea.

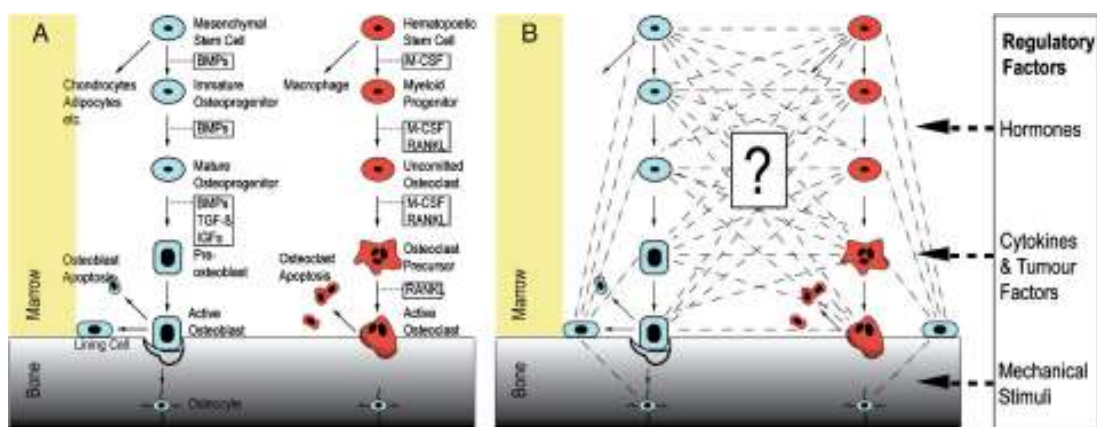


Figura 5.1.1 - Representação esquemática das interações celulares em remodelação óssea. A) Vários estágios de diferenciação nas linhagens das MSC e das células estaminais hematopoéticas. B) Estudos adicionais necessários para compreender as interações complexas que regulam as células do osso.

Proposto por Pivonka e Komarova. (2010)

No estudo do osso, os elementos relevantes são deduzidos através dos resultados mensuráveis ou estimados através de experiências *in vitro*. De momento estas informações podem não estar disponíveis, no entanto os investigadores podem estimar o intervalo dos valores à base dos dados experimentais ou estimar estes valores através de outros valores conhecidos. Por outro lado, se não existe nenhum dado sobre o parâmetro em questão, pode-se

atribuir valores para estes parâmetros e analisar o comportamento geral no modelo estabelecido, como uma das vantagens do modelo matemático [Pivonka e Komarova, 2010].

Outra vantagem da modelação matemática é a capacidade de identificar os parâmetros relevantes, isto é, parâmetros que conseguem provocar, de um modo geral, alterações significativas no comportamento do sistema [Pivonka e Komarova, 2010].

Na análise do modelo, distingue-se dois tipos de resultados: informação que representa o sucesso ou fracasso da simulação do comportamento do sistema; e a análise da situação (varia consoante os valores dos parâmetros, as condições iniciais ou as dependências do mecanismo), que podem influenciar significativamente o comportamento do modelo [Pivonka e Komarova, 2010].

Durante a análise e refinamento do modelo, é necessário uma cooperação sólida na troca de informação entre modelo matemático e experiências (via *in vivo* e *in vitro*) para melhorar os conhecimentos a nível do funcionamento e do comportamento do sistema. A figura 5.1.2 representa esquematicamente a relação entre o mundo real e os modelos [Pivonka e Komarova, 2010]. Quanto às limitações dos modelos matemáticos, estas são devidas à complexidade das questões que estão sob investigação, que necessitam de modelos mais sofisticados para serem resolvidas. A escolha do tipo de modelos depende dos detalhes dos estudos da investigação, como o objectivo; as questões; as aplicações; e as respostas que pretendem. À medida que se aumenta a complexidade do modelo, aumenta também o número de parâmetros associados, o que requer uma calibração constante do modelo [Pivonka e Komarova, 2010].

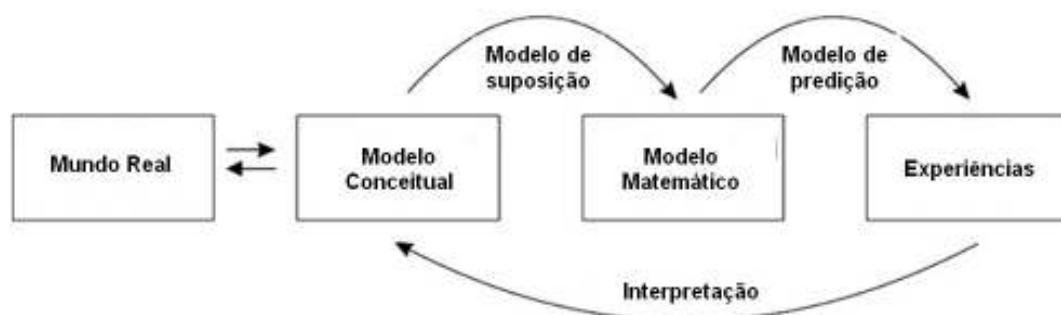


Figura 5.1.2 - Representação esquemática da relação entre o mundo real e os modelos. Proposto por Pivonka e Komarova. (2010) (adaptado)

## 5.2) Modelos matemáticos abordados no projecto

O presente capítulo aborda os modelos matemáticos relevantes que serviram para implementar um novo modelo matemático, com o objectivo de analisar o comportamento do mecanismo da remodelação óssea face aos estímulos mecânicos provenientes de ambientes externos. A nomenclatura das equações dos modelos matemáticos Lemaire (2004) e Maldonado (2006) serão alteradas com o objectivo de a uniformizar entre os modelos, para uma melhor compreensão das equações.

O modelo matemático de Lemaire (2004), incide sobretudo na interacção entre as células de osteoblastos e células de osteoclastos em remodelação óssea [Lemaire et al., 2004]. Incorpora-se no modelo o sistema RANK-RANKL-OPG, PTH e  $TGF-\beta$ , factores relevantes para a interacção celular em diferentes níveis de maturação da linhagem de osteoblastos e osteoclastos [Lemaire et al., 2004; Pivonka et al., 2008]. A estrutura do modelo matemático proposto é baseada no mecanismo ilustrado na figura 5.2.1, que simula as interacções a nível metabólico e a nível celular.

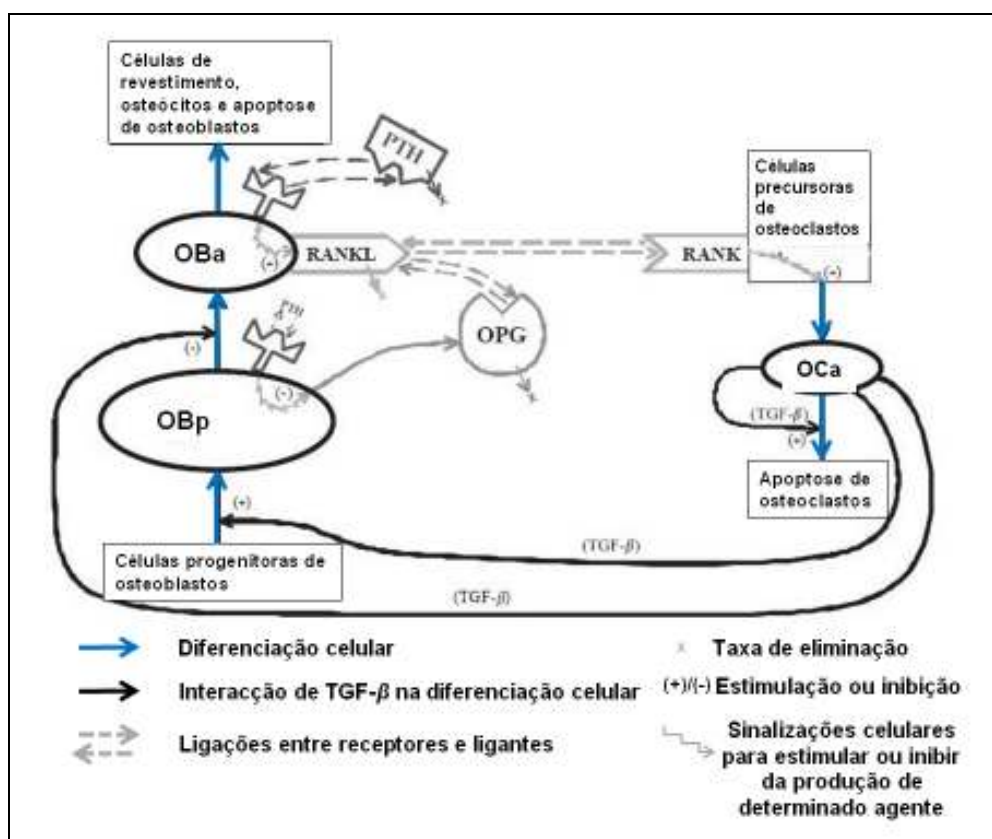


Figura 5.2.1 - A estrutura básica do modelo proposto por Lemaire (2004) (adaptado)

A nível da interacção celular, o modelo matemático permite simular a relação e a interacção entre os osteoblastos e osteoclastos. Através da simulação, verifica-se que a actividade dos osteoclastos depende do nível de maturação dos osteoblastos (células precursoras de osteoblastos ( $OB_p$ ) ou osteoblastos activos ( $OB_a$ )) e que por outro lado, a diferenciação da linhagem de osteoblastos depende da actividade dos osteoclastos activos ( $OC_a$ ). As equações seguintes interpretam as interacções celulares de modo a estimar a quantidade de células específicas ao longo do tempo. Estas células específicas são: as células precursoras de osteoblastos ( $OB_p$ ) (1), células de osteoblastos activos ( $OB_a$ ) (2) e células de osteoclastos activos ( $OC_a$ ) (3).

O modelo proposto por Lemaire baseia-se em equações diferenciais ordinárias não-lineares e de equações algébricas. A equação (1) (que corresponde à equação original em anexo, A18) descreve a quantidade de células precursoras de osteoblastos ( $OB_p$ ) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $DOB_u \times \pi_c$  são responsáveis pelo aumento da quantidade de células precursoras de osteoblastos, que representam a taxa de diferenciação de células progenitoras de osteoblastos em células precursoras de osteoblastos. A diminuição da quantidade de células precursoras de osteoblastos é relacionada com a taxa de diferenciação de células precursoras de osteoblastos em células de osteoblastos activos que correspondem aos componentes  $(DOB_p/\pi_c) \times OB_p$ .

$$\frac{dOB_p}{dt} = DOB_u \times \pi_c - \left( \frac{DOB_p}{\pi_c} \right) \times OB_p \quad (1)$$

A equação (2) (que corresponde à equação original em anexo, A19) descreve a quantidade de células de osteoblastos activos ( $OB_a$ ) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $(DOB_p/\pi_c) \times OB_p$  são responsáveis pelo aumento da quantidade de células de osteoblastos activos, que representam a taxa de diferenciação de células precursoras de osteoblastos em células de osteoblastos activos. A diminuição da quantidade de células de osteoblastos activos é relacionada com a taxa de eliminação de células de osteoblastos activos que correspondem aos componentes  $k_B \times OB_a$ .

$$\frac{dOB_a}{dt} = \left( \frac{DOB_p}{\pi_c} \right) \times OB_p - k_B \times OB_a \quad (2)$$

A equação (3) (corresponde à equação original em anexo, A20) descreve a quantidade de células de osteoclastos activos ( $OC_a$ ) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $DOC_p \times \pi_L$  são responsáveis pelo aumento da quantidade de células de osteoclastos activos, que representam a taxa de diferenciação de células precursoras de osteoclastos em células de osteoclastos activos. A diminuição da quantidade de células de osteoclastos activos está relacionada com a taxa de eliminação de células de osteoclastos activos que correspondem aos componentes  $AOC_a \times \pi_C \times OC_a$ .

$$\frac{dOC_a}{dt} = DOC_p \times \pi_L - AOC_a \times \pi_C \times OC_a \quad (3)$$

$OB_p$ ,  $OB_a$ ,  $OC_a$  correspondem respectivamente às quantidades de células precursoras de osteoblastos ( $OB_p$ ), células de osteoblastos activos ( $OB_a$ ) e células de osteoclastos activos ( $OC_a$ ).  $DOB_u$ ,  $DOC_p$ ,  $DOB_p$  são taxas de diferenciação que correspondem a células progenitoras de osteoblastos ( $DOB_u$ ), células precursoras de osteoclastos ( $DOC_p$ ) e células precursoras de osteoblastos ( $DOB_p$ ).  $D_A$  representa a taxa de apoptose de osteoclastos devido ao TGF- $\beta$ . O  $k_B$  é a taxa de eliminação de osteoblastos activos. O  $\pi_C$ , uma função que depende das células de osteoclastos activos (as células de osteoclastos activos representados no artigo original corresponde a nomenclatura  $C$ , ver anexo A16), representa a quantidade estimada de TGF- $\beta$  através da associação com o comportamento do osteoclasto. O  $\pi_L$ , uma função que depende das células precursoras de osteoblastos e de osteoblastos activos (no artigo original, a nomenclatura para as células precursoras de osteoblastos e para as células de osteoblastos activos são  $R$  e  $B$ , ver anexo A22 e A23), corresponde à taxa do complexo RANKL-RANK em função de RANK disponíveis.

Quanto ao nível da interacção molecular, descreve-se vários mecanismos: a simulação da interacção de RANK-RANKL-OPG e as suas respectivas concentrações ao longo do tempo; a simulação do estado de equilíbrio entre o PTH e os respectivos receptores; e a produção de OPG.

As equações seguintes representam a variação da quantidade em função do tempo: OPG (O) (4), complexo OPG-RANKL (OL) (5), RANKL (L) (6) e complexo de RANK-RANKL (KL) (7).

A equação (4) descreve a quantidade de OPG (O) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $p_0$  e  $k_2 \times OL$  são responsáveis pelo aumento da quantidade de OPG. Os componentes  $k_1 \times O \times L$  e  $d_O$  são responsáveis pela diminuição da quantidade de OPG.

$$\frac{dO}{dt} = p_O - k_1 \times O \times L + k_2 \times OL - d_O \quad (4)$$

A equação (5) descreve a quantidade do complexo OPG-RANKL (OL) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $k_1 \times O \times L$  são responsáveis pelo aumento da quantidade do complexo OPG-RANKL. Os componentes  $k_2 \times OL$  são responsáveis pela diminuição da quantidade do complexo OPG-RANKL.

$$\frac{dOL}{dt} = k_1 \times O \times L - k_2 \times OL \quad (5)$$

A equação (6) descreve a quantidade de RANKL (L) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $p_L$ ,  $k_2 \times OL$  e  $k_4 \times KL$  são responsáveis pelo aumento da quantidade de RANKL. Os componentes  $k_1 \times O \times L$ ,  $k_3 \times K \times L$  e  $d_L$  são responsáveis pela diminuição da quantidade de RANKL. O parâmetro  $K$  representa a concentração fixa de RANK.

$$\frac{dL}{dt} = p_L - k_1 \times O \times L + k_2 \times OL - k_3 \times K \times L + k_4 \times KL - d_L \quad (6)$$

A equação (7) descreve a quantidade do complexo RANK-RANKL (KL) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $k_3 \times K \times L$  são responsáveis pelo aumento da quantidade do complexo RANK-RANKL. Os componentes  $k_2 \times KL$  são responsáveis pela diminuição da quantidade do complexo RANK-RANKL.

$$\frac{dKL}{dt} = k_3 \times K \times L - k_2 \times KL \quad (7)$$

Os variáveis  $p_O$  e  $p_L$  representam a taxa de produção de OPG e de RANKL (ver anexo A11 e A13),  $d_O$  e  $d_L$  representam respectivamente a taxa de degradação de OPG e de RANKL.  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  são taxas de ligação e de separação dos complexos de OPG-RANKL e de RANK-RANKL.

Devido à complexidade presente no mecanismo da remodelação óssea, permaneceram algumas incertezas sobre o seu funcionamento, que levaram os autores a assumirem alguns parâmetros para o desenvolvimento do presente modelo:



- Quantidade ilimitada para as células progenitoras de osteoblastos e para células precursoras de osteoclastos.
- Devido à incerteza pelo qual tipo de célula da linhagem de osteoblastos responsável pela produção de OPG, assumiu-se que as células precursoras de osteoblastos como a células responsáveis pela produção de OPG.
- Devido à incerteza pelo qual tipo de célula da linhagem de osteoblastos responsável pela produção de RANKL, assumiu-se que as células de osteoblastos activos são responsáveis pela expressão de RANKL.

As simulações do modelo proposto pelo artigo representam cenários de equilíbrio da remodelação óssea. Simularam-se virtualmente as doenças através dos modelos matemáticos, alterando os parâmetros presentes nos modelos. Estas simulações têm como objectivo encontrar estratégias terapêuticas para uma determinada doença. Assim, poder-se-á explorar as causas das doenças e desenvolver fármacos eficientes. Os resultados simulados através do modelo sobre a correlação de osteoblastos e osteoclastos coincidem com os dados experimentais.

O modelo matemático proposto por Pivonka em 2008 foi desenvolvido à base do modelo proposto por Lemaire (2004), apresentando algumas modificações: a equação que descreve a variação do volume ósseo; a taxa de variação da concentração de TGF- $\beta$  libertado da matriz óssea devido a acção da reabsorção; equação que descreve a expressões de RANKL e de OPG na linhagem celular de osteoblastos consoante o nível de maturação; e a função de activador/repressor baseado na cinética enzimática.

O modelo matemático proposto apresenta de modo simplificado o mecanismo biológico realístico. Um dos interesses do artigo consiste no estudo do comportamento da população celular do modelo, na presença de perturbações virtuais, a partir da fase estacionária. Designa-se por fase estacionária a ausência de formação e de reabsorção óssea. O estudo do comportamento da população celular inicia-se na fase estacionária e efectua-se perturbações no modelo através da alteração dos parâmetros das taxas de diferenciação e de apoptose. Em seguida, removem-se as perturbações para analisar a resposta do modelo face às perturbações efectuadas, até atingir uma nova fase estacionária.

A figura 5.2.2 ilustra a dinâmica da população celular e as interacções entre os receptores e ligantes, constituindo a estrutura básica do modelo matemático proposto por Pivonka (2008). Devido ao elevado número de células que estão envolvidas na diferenciação das células de BMU, os autores seleccionaram os tipos de células mais representativas na

dinâmica da diferenciação de células. Consideram 4 tipos de células da linhagem de osteoblastos (2 tipos de células em estados variáveis: as precursoras de osteoblastos e osteoblastos activos) e 3 tipos de células da linhagem de osteoclastos (1 tipo de célula em estado variável: osteoclastos activos)

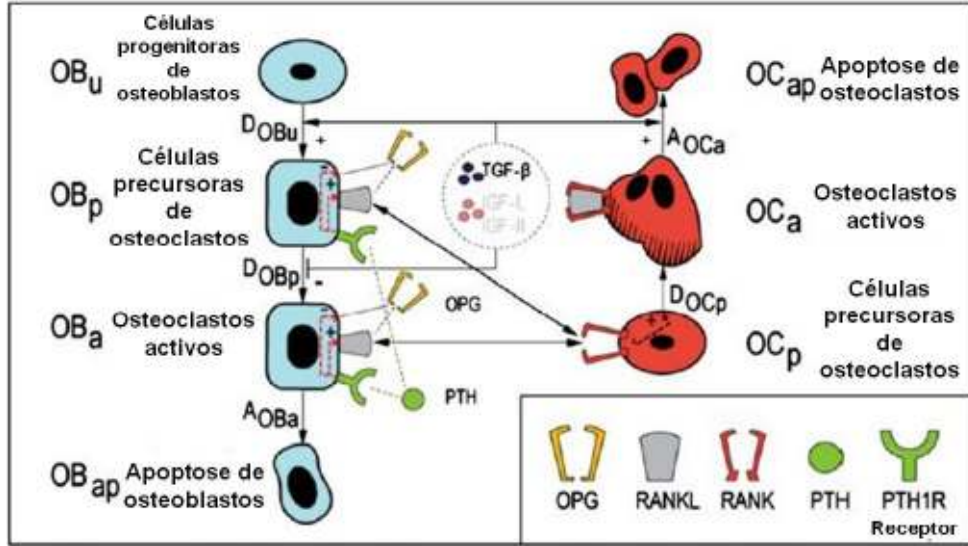


Figura 5.2.2 - A estrutura básica do modelo proposto por Pivonka (2008) (adaptado)

O modelo proposto por Pivonka (2008) é constituído pelas equações diferenciais ordinárias e equações algébricas. As seguintes equações descrevem a variação da quantidade de células precursoras de osteoblastos ( $OB_p$ ) (8), células de osteoblastos activos ( $OB_a$ ) (9), células de osteoclastos activos ( $OC_a$ ) (10) e a variação do volume ósseo ( $BV$ ) (11) ao longo do tempo.  $DOB_u$ ,  $DOB_p$  e  $DOC_p$ , representam respectivamente as taxas de diferenciação de células progenitoras de osteoblastos, de células precursoras de osteoblastos e de células precursoras de osteoclastos. Os parâmetros  $AOB_a$  e  $AOC_a$  representam a taxa de apoptose das células de osteoblastos activos e de células de osteoclastos activos e o  $OB_u$  representa a quantidade de células progenitoras de osteoblastos. Os parâmetros  $\pi^{TGF-\beta}_{act;OB_u}$ ,  $\pi^{TGF-\beta}_{rep;OB_p}$  e  $\pi^{TGF-\beta}_{act;OC_p}$ , representam funções de activação (act) ou de repressão (rep), sob efeito de ligação de  $TGF-\beta$  com os receptores presentes nas respectivas células progenitoras de osteoblastos, células precursoras de osteoblastos e células precursoras de osteoclastos.  $\pi^{RANKL}_{act;OC_p}$  é o factor activador que corresponde às células precursoras de osteoclastos devido à interacção de  $RANKL$ - $RANK$ .  $k_{res}$  e  $k_{form}$  são constantes que representam a reabsorção e formação óssea.

A equação (8) descreve a quantidade de células precursoras de osteoblastos ( $OB_p$ ) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $DOB_u \times OB_u \times \pi^{TGF-\beta}_{act;OB_u}$  são responsáveis pelo

aumento da quantidade de células precursoras de osteoblastos, representando a taxa de diferenciação de células progenitoras de osteoblastos em células precursoras de osteoblastos. Os componentes  $DOB_p \times OB_p \times \pi^{TGF-\beta}_{rep;OB_p}$  são responsáveis pela diminuição da quantidade de células precursoras de osteoblastos, representando a taxa de diferenciação de células precursoras de osteoblastos em células de osteoblastos activos.

$$\frac{dOB_p}{dt} = DOB_u \times OB_u \times \pi^{TGF-\beta}_{act;OB_u} - DOB_p \times OB_p \times \pi^{TGF-\beta}_{rep;OB_p} \quad (8)$$

A equação (9) traduz a quantidade de células de osteoblastos activos ( $OB_a$ ) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $DOB_p \times OB_p \times \pi^{TGF-\beta}_{rep;OB_p}$  representam a taxa de diferenciação de células precursoras de osteoblastos em células de osteoblastos activos, sendo responsáveis pelo aumento da quantidade de células precursoras de osteoblastos. Os componentes  $AOB_a \times OB_a$  representam a taxa de eliminação de células de osteoblastos activos, responsáveis pela diminuição da quantidade de células de osteoblastos activos.

$$\frac{dOB_a}{dt} = DOB_p \times OB_p \times \pi^{TGF-\beta}_{rep;OB_p} - AOB_a \times OB_a \quad (9)$$

A equação (10) descreve a quantidade de células de osteoclastos activos ( $OC_a$ ) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $DOC_p \times OC_p \times \pi^{RANKL}_{act;OC_p}$  são responsáveis pelo aumento da quantidade de células de osteoclastos activos, representando a taxa de diferenciação de células precursoras de osteoclastos em célula de osteoclastos activos. Os componentes  $AOC_a \times OC_a \times \pi^{TGF-\beta}_{act;OC_p}$  são responsáveis pela diminuição da quantidade de células de osteoblastos activos, representando a taxa de eliminação de células de osteoclastos activos.

$$\frac{dOC_a}{dt} = DOC_p \times OC_p \times \pi^{RANKL}_{act;OC_p} - AOC_a \times OC_a \times \pi^{TGF-\beta}_{act;OC_p} \quad (10)$$

A equação (11) traduz o balanço do volume do osso ( $BV$ ) formado ao longo do tempo. Os componentes  $k_{res} \times OC_a$  representam a actividade de reabsorção óssea efectuada pelas células de osteoclastos activos que são responsáveis pela diminuição do volume ósseo. Os componentes  $k_{form} \times OB_a$  são responsáveis pelo aumento do volume ósseo devido a actividade de formação óssea efectuada pelas de células de osteoblastos activos.

$$\frac{dBV}{dt} = -k_{res} \times OC_a + k_{form} \times OB_a \quad (11)$$

Um dos objectivos do trabalho é a análise da expressão de RANKL e de OPG na linhagem de osteoblastos. Segundo o artigo, RANKL e OPG são expressas nas células precursoras de osteoblastos e nas células de osteoblastos activos. Apresenta-se uma maior expressão de OPG em osteoblastos activos e uma maior expressão de RANKL em células precursoras de osteoblastos. A figura 5.2.3 mostra a variação da expressão de OPG e de RANKL na linhagem de osteoblastos.

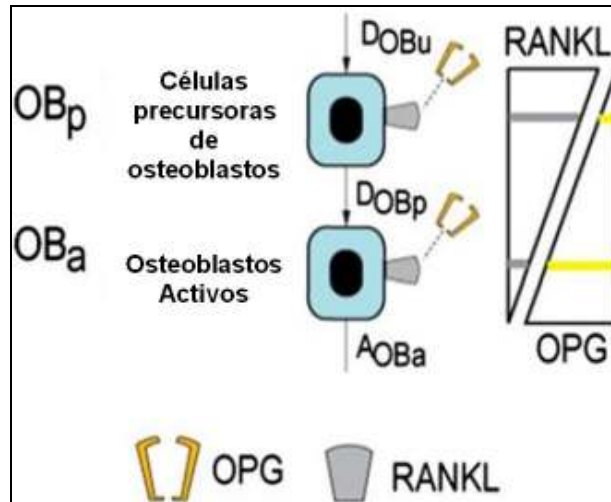


Figura 5.2.3 – A variação da expressão de OPG e RANKL na linhagem de osteoblastos (adaptado) [Pivonka et al. 2008]

Apresentam-se 4 situações extremas para a simulação, ilustradas na figura 5.2.4:

modelo 1 – a expressão exclusiva de OPG em células precursoras de osteoblastos e a expressão exclusiva de RANKL em osteoblastos activos (modelo proposto por Lemaire (2004)); modelo 2 – a expressão exclusiva de OPG em osteoblastos activos e a expressão exclusiva de RANKL em células precursoras de osteoblastos (proposta do presente artigo); modelo 3 – a expressão exclusiva de OPG e RANKL em células precursoras de osteoblastos; modelo 4 – a expressão exclusiva de OPG e RANKL em osteoblastos activos.

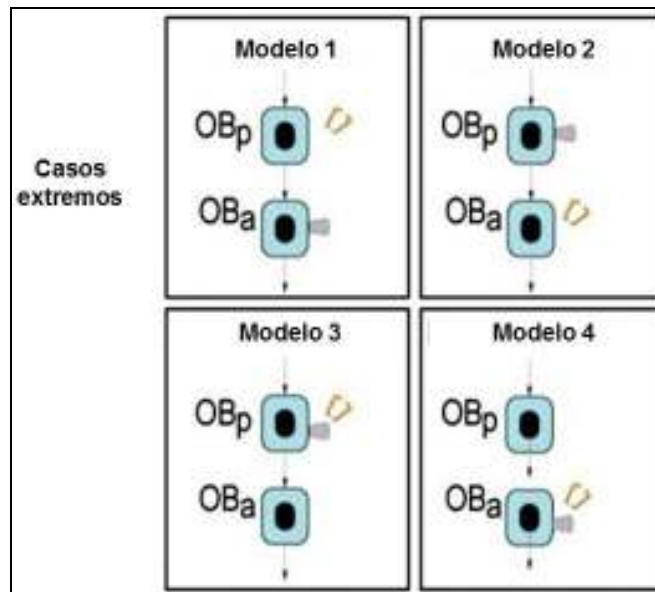


Figura 5.2.4 – Modelos extremos da expressão de OPG e RANKL (adaptado) [Pivonka et.al. 2008]

Em 2010, Pivonka utilizou-se o modelo matemático desenvolvido num trabalho prévio (Pivonka et. al. (2008)), para analisar os efeitos do sistema RANK-RANKL-OPG no mecanismo da remodelação óssea. Para tal, o artigo incide em 2 estudos: No primeiro estudo investiga-se sobre doenças relacionadas com perturbações do sistema de RANK-RANKL-OPG como a expressão excessiva de RANKL, variação da expressão de OPG e modificação de receptores de RANK. As doenças que afectam o osso podem apresentar entre uma ou múltiplas perturbações no sistema de RANK-RANKL-OPG. O segundo estudo investiga-se as possíveis estratégias terapêuticas virtuais para as doenças relacionadas com as perturbações do sistema RANK-RANKL-OPG.

No primeiro estudo, o modelo é comparado com os dados experimentais verificando-se que o modelo representa de modo satisfatório o mecanismo fisiológico do osso. Ao simular virtualmente as doenças originadas pelas perturbações do sistema RANK-RANKL-OPG, através do modelo matemático, verifica-se uma maior resposta em células de osteoclastos relativamente às células de osteoblastos. Isto mostra que as perturbações devido ao sistema RANK-RANKL-OPG não são suficientemente eficientes para representar doenças relacionadas com a formação excessiva do osso, como doenças do género *van Buchem* e esclerosteoses. Verifica-se perturbações menos severas quando se trata de uma alteração de um único parâmetro no sistema RANK-RANKL-OPG comparando com vários parâmetros alterados no sistema.

No segundo estudo, identificaram-se 3 tipos de intervenções terapêuticas para as doenças virtuais simuladas previamente: para o efeito pro-anabólico relaciona-se com a

diferenciação e apoptose de células de osteoblastos; anti-catabólico associa-se com as alterações dos parâmetros do sistema de RANK-RANKL-OPG que afecta a diferenciação e apoptose de células de osteoclastos; e alterações em diferenciação de células precursoras de osteoblastos para promover terapias anti-catabólica.

### **Modelo matemático que relaciona factores mecânicos e biológicos**

Sendo os factores mecânicos e biológicos responsáveis pelo mecanismo da remodelação óssea, o desenvolvimento dos modelos que integram estes dois factores tornam-se relevantes para adquirir novos conhecimentos sobre o funcionamento do mecanismo da remodelação óssea. Apresentam-se modelos que relacionam factores biológicos a nível celular ou metabólico com o estímulo mecânico aplicado no osso [Maldonado et. al., 2006]. A actividade de BMU é estimulada pela magnitude da carga exterior, que pode induzir a formação ou a reabsorção óssea. A reabsorção óssea pode ocorrer devido à insuficiência de estímulo mecânico, isto é, quando o osso entra em desuso ou quando a carga aplicada não é suficiente para estimular. Por outro lado, a reabsorção também ocorre quando se aplica uma carga elevada [García-Aznar et al., 2005, Li et. al., 2007].

O modelo matemático proposto por Maldonado em 2006, incide na integração de osteócitos como o meio, para controlar a adaptação óssea, face aos estímulos mecânicos. A adaptação óssea é efectuada através da formação e da reabsorção óssea. Os autores integraram no modelo, óxido nítrico (NO) e prostangladina E2 (PGE<sub>2</sub>), sendo estes libertados pelos osteócitos que promovem a formação óssea através da estimulação da formação de células precursoras de osteoblastos e da inibição indirecta da formação de osteoclastos activos. Esta inibição indirecta é efectuada através da estimulação da produção de OPG e da diminuição da produção de RANKL nas células de osteoblastos [Maldonado et al. 2006]. A relação dos factores relevantes, propostos por Maldonado (2006) está esquematizada na figura 5.2.5.

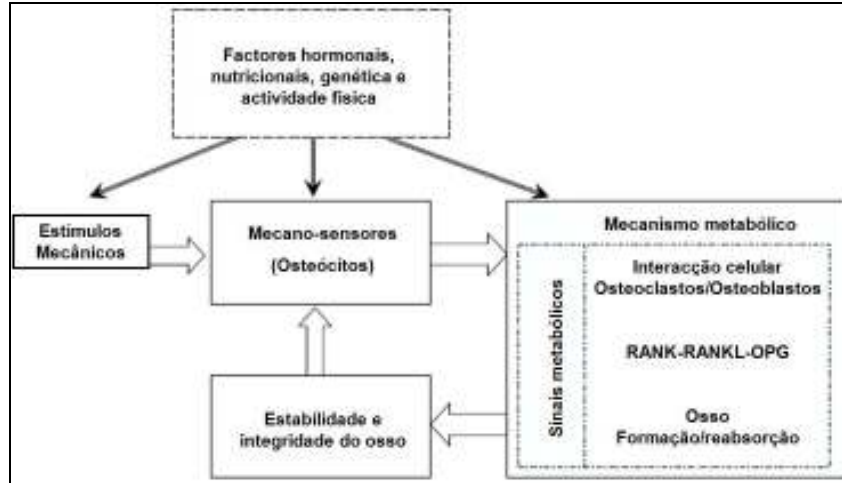


Figura 5.2.5 - A estrutura do modelo matemático proposto por Maldonado et al. (2006) (Adaptado)

A secção do mecanismo metabólico do modelo matemático proposto, descreve as interações das populações das células de osteoblastos e de osteoclastos em remodelação óssea, baseado no modelo proposto por Lemaire (2004).

O modelo proposto por Maldonado (2006) é constituído através de equações diferenciais ordinárias e de equações algébricas.

O número de osteócitos é calculado através da taxa de diferenciação de células de osteoblastos activos em osteócitos e da taxa de apoptose de osteócitos. A apoptose de osteócitos proposta no modelo exclui as causas da fadiga e de danos microscópicos.

Os factores NO e PGE<sub>2</sub> são libertados pelos osteócitos consoante o estímulo mecânico  $F_{sti}$ . A equação (12) determina o estímulo  $F_{sti}$  consoante o número da população de osteócitos presentes no local do estímulo.  $x_y$  representa a quantidade de osteócitos,  $k_y$  a taxa de influência de osteócito e  $k_{Fs}$  a taxa da influência da força.  $F_s$  representa a magnitude da força, calculada através da equação (13). Sendo  $F_a$  a força aplicada axialmente sobre uma determinada área do osso  $A_B$ .

$$F_{sti} = \frac{F_s x_y}{(1 + \exp(-(k_{Fs} F_s + k_y x_y)))} \quad (12)$$

$$F_s = \frac{F_a}{A_B} \quad (13)$$

Na presença da força externa, NO promove o aumento de OPG e diminui a quantidade de RANKL, favorecendo a formação óssea. Quanto à PGE<sub>2</sub>, o seu aumento estimula o aumento da quantidade de células precursoras de osteoblastos.

A quantidade de NO é representada por  $x_{no}$ , estimada através da equação diferencial (14). O aumento da quantidade de NO depende dos componentes  $k_{yno} F_{sti}$  e  $X_{noe}$ . Sendo  $F_{sti}$  a força estimulante recebida;  $k_{yno}$  representa a taxa de libertação constante de NO pelos osteócitos; e o  $X_{noe}$  a quantidade de administração externa. O componente  $k_{nod}$  representa a taxa de degradação constante de NO, o que contribui para a diminuição da quantidade NO.

$$\frac{dx_{no}}{dt} = k_{yno} F_{sti} - k_{nod} x_{no} + X_{noe} \quad (14)$$

A equação 15 descreve a quantidade de PGE<sub>2</sub> ( $x_{pge}$ ) produzida ao longo do tempo. O aumento da quantidade de PGE<sub>2</sub> deve-se aos seguintes factores: a libertação de PGE<sub>2</sub> pelos osteócitos consoante as forças estimulantes ( $k_{ypge} F_{sti}$ ); o aumento de PGE<sub>2</sub> consoante a quantidade de NO ( $k_{nopge} x_{no}$ ); e a  $X_{pgex}$ , quantidade de administração externa.  $k_{ypge}$  representa a taxa de libertação constante de PGE<sub>2</sub> pelos osteócitos e  $k_{nopge}$  a taxa constante de aumento de PGE<sub>2</sub>, na presença de NO. Os componente  $k_{pged} x_{pge}$  são responsáveis pela diminuição da quantidade de PGE<sub>2</sub>, sendo  $k_{pged}$  o coeficiente de degradação constante de PGE<sub>2</sub>.

$$\frac{dx_{pge}}{dt} = k_{ypge} F_{sti} + k_{nopge} x_{no} - k_{pged} x_{pge} + X_{pgex} \quad (15)$$

A equação (16) representa a variação da quantidade de osteócitos (OY) ao longo do tempo. A formação de osteócitos está associada com a diferenciação de OB<sub>a</sub> e a eliminação de osteócitos está relacionada com a própria degradação, isto é, a degradação de osteócitos. Os parâmetros  $X_{ob}$  e  $X_{oy}$  correspondem os valores iniciais de osteoblastos activos e de osteócitos, respectivamente. O  $k_{byp}$  representa a taxa de produção de osteócitos e o  $k_{yd}$  corresponde à taxa de degradação de osteócitos.

$$\frac{dOY}{dt} = k_{byp} (OB_a - X_{ob}) - k_{yd} (OY - X_{oy}) \quad (16)$$

A equação (17) representa a variação do raio do osso (rB) ao longo do tempo. A sua formação é associada com capacidade de formação óssea dos osteoblastos, e a quantidade de



osteócitos. Quanto à diminuição do raio do osso associa-se com a capacidade de reabsorção óssea dos osteoclastos e também a degradação do raio.

$$\frac{drB}{dt} = \frac{-k_{res}}{X_{oc}} \times OC_a + \frac{k_{for}}{X_{ob}} \times OB_a + \frac{1}{X_{oy}} \times OY - k_r \times rB \quad (17)$$

A figura 5.2.6 ilustra esquematicamente as interações, a nível mecânico e a nível metabólico, da remodelação óssea proposta por Maldonado em 2007.

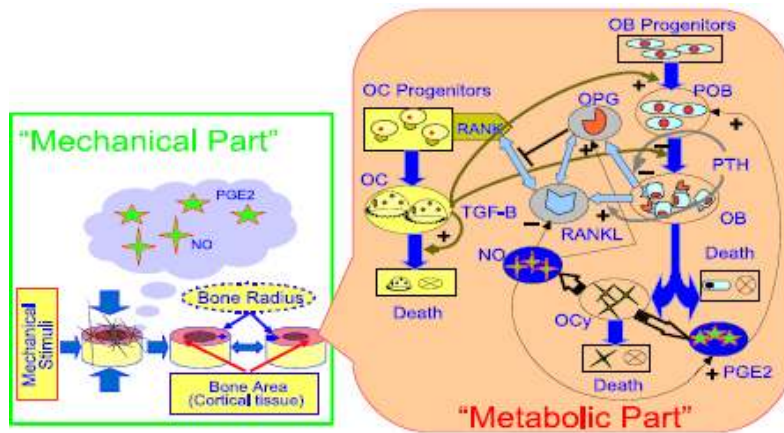


Figura 5.2.6 – Interações de remodelação óssea proposto por Maldonado et al. (2007)

### 5.3) Implementação do novo modelo

#### 5.3.1) A proposta do novo modelo

O objectivo no âmbito deste Projecto (Projecto e Tese II) é implementar um modelo que abrange as componentes mecânica e metabólica da remodelação óssea. O desenvolvimento do modelo baseia-se nos modelos e conceitos propostos por Maldonado (2006) e Pivonka (2010).

O modelo matemático proposto por Maldonado (2006), relaciona as influências do estímulo mecânico com o funcionamento do mecanismo metabólico da remodelação óssea. O estímulo mecânico é interpretado através de osteócitos. Os osteócitos, uma vez estimulados, libertam óxido nítrico (NO) e prostangladina E2 (PGE<sub>2</sub>), sendo estes os factores que promovem

a formação óssea através da inibição da formação de osteoclastos e a estimulação do aumento da quantidade de células precursoras de osteoblastos. Estes autores adoptaram o modelo proposto por Lemaire em 2004 para interpretar o funcionamento do mecanismo metabólico da remodelação óssea.

Neste Projecto, pretende-se utilizar o modelo proposto por Pivonka (2010), substituindo o modelo proposto por Lemaire (2004), para interpretar o mecanismo metabólico e utilizar o conceito do modelo de Maldonado (2006) para construir um modelo que abrange os dois factores, interpretando o mecanismo mecânico através de osteócitos. A ideia desta substituição surge dos pensamentos divergentes defendidos pelos autores, quanto à produção de RANKL e de OPG. Lemaire (2004) defende que RANKL é produzida em células de osteoblastos activos e OPG é produzida em células precursoras de osteoblastos. Enquanto que Pivonka (2008) defende o contrário, isto é, RANKL é produzida em células precursoras de osteoblastos e OPG é produzida em células de osteoblastos activos.

Assim, pretende-se implementar o novo modelo à base dos princípios do modelo proposto por Maldonado (2006), no que se refere aos estímulos mecânicos, e do modelo proposto por Pivonka (2010), que interpreta o funcionamento do mecanismo metabólico da remodelação óssea.

A figura 5.3.1 ilustra a adaptação dos vários conceitos para a implementação do novo modelo.

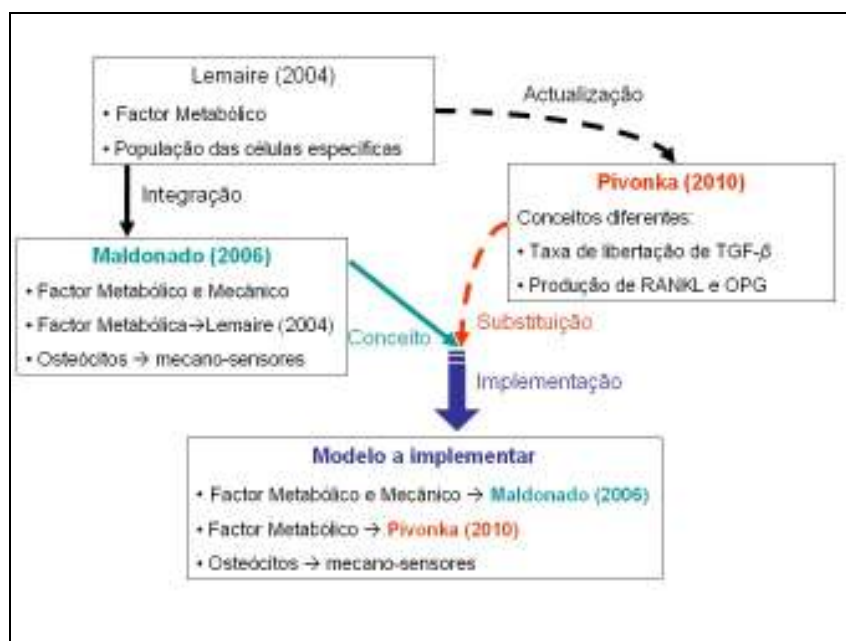


Figura 5.3.1 - Adaptações de conceitos para formular o modelo a implementar

A figura 5.3.2 mostra a estrutura básica do novo modelo que se pretende implementar.

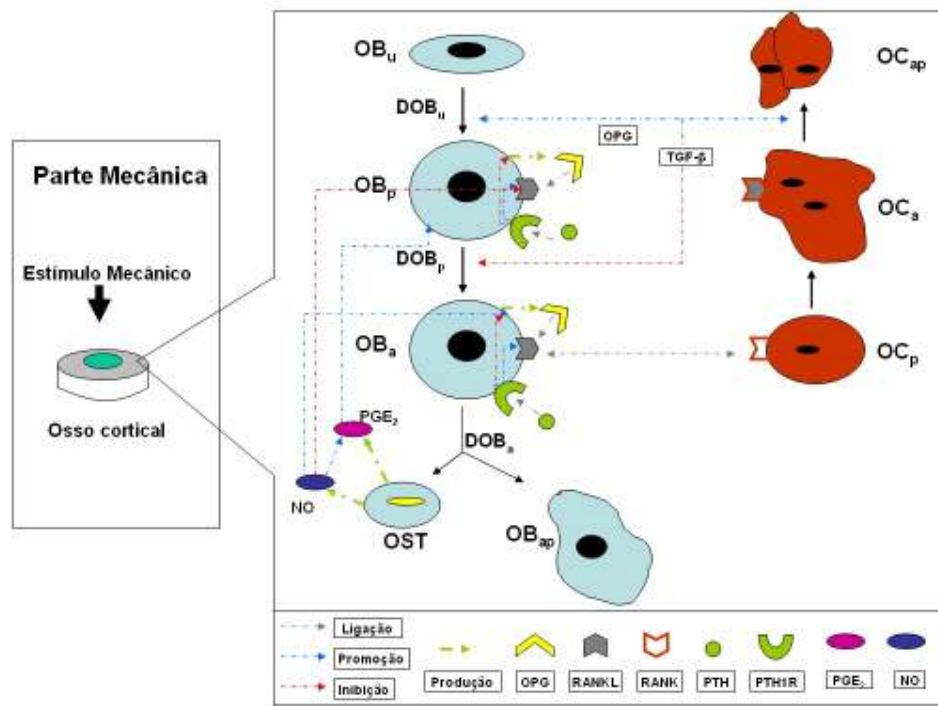


Figura 5.3.2 - A estrutura básica do modelo que se pretende implementar

O novo modelo incluirá 5 estados da linhagem de células de osteoblastos que são as células progenitoras de osteoblastos; células precursoras de osteoblastos; células de osteoblastos activos; osteócitos e a morte das células de osteoblastos. Por outro lado, incluirá 3 estados da linhagem de células de osteoclastos que são as células precursoras de osteoclastos; células de osteoclastos activos e a morte de células de osteoclastos.

O novo modelo vai adoptar os conceitos e as equações propostas por Maldonado (2006) para interpretar a parte mecânica, isto é, a força estimulante ( $F_{sti}$ ), raio do osso ( $r_B$ ), a área do osso ( $A_B$ ), a quantidade de osteócitos ( $x_y$ ), de  $NO$  e de  $PGE_2$ .

Na parte metabólica, é necessário efectuar alguns ajustes para conjugar os modelos do Maldonado (2006) e do Pivonka (2010). Isto é, integrar os componentes  $NO$  e  $PGE_2$  na produção de  $OPG$  e  $RANKL$  e também na estimulação da quantidade de células precursoras de osteoblastos.

Após a implementação do novo modelo, prossegue-se às devidas simulações para obter resultados que se aproximem do comportamento do mecanismo da remodelação óssea. Os resultados obtidos serão comparados com os resultados do Maldonado (2007)

### 5.3.2) Implementação do modelo matemático

A implementação do novo modelo matemático (modelo Paulino) é efectuada com o auxílio do programa *Wolfram Mathematica* versão 7.

O modelo matemático é constituído por 8 equações diferenciais ordinárias e 16 equações algébricas. Este conjunto de equações estão interligadas entre si e dependem do comportamento de uma e da outra.

A equação diferencial (18) descreve a quantidade de células precursoras de osteoblastos ( $OB_p$ ) produzida ao longo do tempo. Os componentes  $DOB_u \times OB_u \times \pi^{TGF-\beta}_{act;OB_u}$  são responsáveis pelo aumento da quantidade de células precursoras de osteoblastos, representando a taxa de diferenciação de células progenitoras de osteoblastos em células precursoras de osteoblastos. Os componentes  $DOB_p \times OB_p \times \pi^{TGF-\beta}_{rep;OB_p}$  são responsáveis pela diminuição da quantidade de células precursoras de osteoblastos, representam a quantidade de células de osteoblastos activos diferenciadas a partir de células precursoras de osteoblastos. Os componentes  $k_{pger} x_{pge}$ , representam a  $PGE_2$ , são integrados nesta equação proposta por Pivonka (2010), o que proporciona o aumento da quantidade de células precursoras de osteoblastos.

$$\frac{dOB_p}{dt} = DOB_u \times OB_u \times \pi^{TGF-\beta}_{act;OB_u} - DOB_p \times OB_p \times \pi^{TGF-\beta}_{rep;OB_p} + k_{pger} \times x_{pge} \quad (18)$$

As equações diferenciais ordinárias (19), (20), (21), (22), (23), (24), (25), permanecem inalteradas face aos modelos originais. As equações (19), (20) representam as variações das populações da  $OB_a$  e da  $OC_a$  ao longo do tempo. A equação (21) representa a variação do volume ósseo ao longo do tempo, dependendo das populações de BMU. Os valores dos parâmetros  $k_{res}$  e  $k_{form}$  diferem dos que estão no artigo original, mas são ajustados de modo a se adequarem ao presente modelo. As equações (22) e (23) representam respectivamente as expressões de NO e de  $PGE_2$ , que são elementos produzidos pelos osteócitos quando estimulados devidamente. A equação (24) estima a quantidade de osteócitos, associando-se com a  $OB_a$  e a degradação de osteócitos (OY). A equação (25) representa a variação do raio do osso ao longo do tempo, consoante a magnitude da carga que é aplicada carga.

$$\frac{dOB_a}{dt} = DOB_p \times OB_p \times \pi^{TGF-\beta}_{rep;OB_p} - AOB_a \times OB_a \quad (19)$$

$$\frac{dOC_a}{dt} = DOC_p \times OC_p \times \pi_{act;OC_p}^{RANKL} - AOC_a \times OC_a \times \pi_{act;OC_p}^{TGF-\beta} \quad (20)$$

$$\frac{dBV}{dt} = -k_{res} \times OC_a + k_{form} \times OB_a \quad (21)$$

$$\frac{dx_{no}}{dt} = k_{yno} F_{bs} - k_{nod} x_{no} + X_{noe} \quad (22)$$

$$\frac{dx_{pge}}{dt} = k_{ypge} F_{bs} + k_{nopge} x_{no} - k_{pged} x_{pge} + X_{pge} \quad (23)$$

$$\frac{dOY}{dt} = k_{byp} (OB_a - X_{ob}) - k_{yd} (OY - X_{oy}) \quad (24)$$

$$\frac{drB}{dt} = \frac{-k_{res}}{X_{oc}} \times OC_a + \frac{k_{for}}{X_{ob}} \times OB_a + \frac{1}{X_{oy}} \times OY - k_r \times rB \quad (25)$$

As equações (27), (28), (29), (31), (32), (33), (35), (37), são equações dos modelos do Pivonka (2010) e do Maldonado (2006) que permanecem inalteradas para o novo modelo. A equação (26) representa o factor activador, regulada pela RANKL, que promove a diferenciação de células precursoras de osteoclastos ( $OC_p$ ) em células de osteoclastos activos. A equação (26) difere da equação original presente no Pivonka 2010, esta alteração é baseada numa versão mais actualizada do modelo do Pivonka, disponível em [www.cellml.org](http://www.cellml.org), com a seguinte hiperligação: [http://models.cellml.org/workspace/pivonka\\_zimak\\_smith\\_gardiner\\_dunstan\\_sims\\_martin\\_mundy\\_2008](http://models.cellml.org/workspace/pivonka_zimak_smith_gardiner_dunstan_sims_martin_mundy_2008). O  $KKA2RANKL$  representa a associação de ligação de RANKL-OPG e o  $KKD8RANKL$  corresponde ao coeficiente de activação da ligação de RANKL-RANK

$$\pi_{act;OC_p}^{RANKL} = \frac{KKA2RANKL \times RANK \times RANKL}{KKD8RANKL + KKA2RANKL \times RANK \times RANKL} \quad (26)$$

A equação (27) expressa a quantidade de PTH. O  $PTH(t)$  representa a administração externa de PTH. O  $\beta PTH$  corresponde a produção de PTH e o  $DDPTH$  representa a degradação de PTH

$$PTH = \frac{\beta PTH + PTH(t)}{DDPTH} \quad (27)$$

As equações (28) e (29), representam os factores de activação, estimulados pela PTH para a produção de RANKL, respectivamente nas células precursoras de osteoblastos (OB<sub>p</sub>) e células de osteoblastos activos (OB<sub>a</sub>). E as equações (30) e (31) representam os factores de repressão, impedida pela PTH na produção de OPG, nas células OB<sub>p</sub> e células OB<sub>a</sub>.

$$\pi_{act,OB_p}^{PTH} = \frac{PTH}{KKD4PTH + PTH} \quad (28)$$

$$\pi_{act,OB_a}^{PTH} = \frac{PTH}{KKD5PTH + PTH} \quad (29)$$

$$\pi_{rep,OB_p}^{PTH} = \frac{1}{1 + PTH / KKD6PTH} \quad (30)$$

$$\pi_{rep,OB_a}^{PTH} = \frac{1}{1 + PTH / KKD7PTH} \quad (31)$$

A quantidade de TGF-β é estimada através da equação (32). Esta equação difere da equação original presente no artigo do Pivonka 2010, mas está presente no modelo proposto por Pivonka em cellml. As equações (33) e (35) correspondem ao factor activador, controlado pelo TGF-β, para a diferenciação da OB<sub>u</sub> em OB<sub>p</sub> e na indução da apoptose da OC<sub>a</sub>. A equação (34) representa o factor repressor, controlado pelo TGF-β, para o impedimento da diferenciação de OB<sub>p</sub> em OB<sub>a</sub>.

$$TGF - \beta = \alpha \times OC_a \quad (32)$$

$$\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} = \frac{TGF - \beta}{KKD1TGF\beta + TGF - \beta} \quad (33)$$

$$\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} = \frac{1}{1 + TGF - \beta / KKD2TGF\beta} \quad (34)$$

$$\pi_{act,OC_a}^{TGF-\beta} = \frac{TGF - \beta}{KKD3TGF\beta + TGF - \beta} \quad (35)$$

Os componentes NO e  $PGE_2$  são integrados nas equações do modelo do Pivonka (2010) relacionadas com as produções da OPG e da RANKL. A equação (36) representa a quantidade de RANKL livre. A quantidade de NO e a taxa de diminuição de RANKL devido a NO, representado por  $k_{nokl}$ , estão inseridas no denominador. O conjunto  $k_{nokl} \times x_{no}$  representa a influência de NO que tem como efeito reprimir a estimulação da produção de RANKL. A variável  $PRANKL(t)$  representa administração externa de RANKL. A equação (37) representa a quantidade de RANKL produzida pelos osteoblastos.

$$RANKL = \frac{\beta RANKL + PRANKL(t)}{(1 + KKA1RANKL \times OPG + KKA2RANKL \times RANK) \times \left( \frac{\beta RANKL}{RANKL_{eff}} + DDRANKL \right) + k_{nokl} \times x_{no}} \quad (36)$$

$$RANKL_{eff} = \pi_{act,OB_a}^{PTH} \times (RRANKL1 \times OB_p + RRANKL2 \times OB_a) \quad (37)$$

A equação (38) expressa a quantidade de OPG. A quantidade de NO ( $x_{no}$ ) e a taxa de aumento de OPG devido a NO ( $k_{nop}$ ), estão inseridas no numerador. O conjunto  $k_{nop} \times x_{no}$  representa a influência de NO, que tem como efeito promover a estimulação da produção de OPG. A  $POPG(t)$  representa a administração externa de OPG.

$$OPG = \frac{k_{nop} \times x_{no} + (\beta 1OPG \times OB_p + \beta 2OPG \times OB_a) \times \pi_{rep,OB_a}^{PTH} + POPG(t)}{\left( (\beta 1OPG \times OB_p + \beta 2OPG \times OB_a) / OPG_{max} \right) \times \pi_{rep,OB_a}^{PTH} + DDOPG} \quad (38)$$

A equação (39) representa o estímulo biomecânico ( $F_{bs}$ ) que depende da quantidade de osteócitos ( $x_y$ ) e da magnitude da força ( $F_s$ ).

$$F_{bs} = \frac{F_s x_y}{1 + e^{-(k_{Fs} F_s + k_{y} x_y)}} \quad (39)$$

A equação (40) representa a magnitude da força ( $F_s$ ), que depende da força externa aplicada ( $F_a$ ) e da área transversal do raio do osso. A força externa aplicada pode variar ao longo do tempo.

$$F_s = \frac{F_a}{A_B} \quad (40)$$

A equação (41) representa a área do osso, calculada com o raio do osso (rB) da equação diferencial (25).

$$A_B = \pi \times rB^2 \quad (41)$$

A tabela 5.3.3 representa os parâmetros utilizados no modelo, baseados nos parâmetros do Maldonado et. al. 2006 e do Maldonado et. al. 2007. O valor do parâmetro knokl referido na tabela 5.3.3 é diferente do valor que se encontra no artigo. No artigo Maldonado et. al. 2006 o valor de knokl=100. Esta alteração é confirmada pela própria autora do artigo, Solvey Maldonado. Os valores dos parâmetros Xpob, Xob e Xoc são adaptados para o presente modelo. Os parâmetros da tabela 5.3.3 representam elementos relevantes que constitui o funcionamento do estímulo mecânico que proporciona a variação da quantidade da OB<sub>a</sub> e da OC<sub>a</sub>.

Simbolos	Valor	Unidade	Descrição
kr	1x10 <sup>0</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de degradação do raio
kres	10x10 <sup>-3</sup>	mm/dia	Taxa de reabsorção óssea
kfor	1x10 <sup>-3</sup>	mm/dia	Taxa de formação óssea
Fa	1x10 <sup>0</sup>	N	Valor de referência para a força aplicada
Xpob	6.196x10 <sup>-4</sup>	pM	Valor de referência para OBp
Xob	5.584x10 <sup>-4</sup>	pM	Valor de referência para OBa
Xoc	8.070x10 <sup>-4</sup>	pM	Valor de referência para OCa
Xoy	7.3x10 <sup>-3</sup>	pM	Valor de referência para osteócitos
kbyp	1x10 <sup>-1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de produção de osteócitos
kyd	1x10 <sup>0</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de degradação de osteócitos
kyno	2x10 <sup>4</sup>	dia/N	Taxa de libertação de NO
knod	1x10 <sup>3</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de eliminação de NO
ky	1x10 <sup>0</sup>	pM <sup>-1</sup>	Taxa de influência de osteócitos
kfs	1x10 <sup>0</sup>	mm <sup>2</sup> /N	Taxa de influência da força
kypg	1x10 <sup>2</sup>	mm2 dia/N	Taxa de libertação da PGE <sub>2</sub>
kpgd	1x10 <sup>2</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de eliminação da PGE <sub>2</sub>
knopg	1x10 <sup>1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de aumento de PGE <sub>2</sub> devido à NO
knop	1x10 <sup>1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de aumento de OPG devido à NO
kopgd	3.5x10 <sup>-1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de eliminação de OPG
knokl	5x10 <sup>1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de diminuição de RANKL devido à NO
kpger	1x10 <sup>-4</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de aumento de POB devido à PGE <sub>2</sub>
Xnoe	0	pM dia <sup>-1</sup>	Taxa de administração externa de NO
Xpgex	0	pM dia <sup>-1</sup>	Taxa de administração externa de PGE <sub>2</sub>

Tabela 5.3.3 - Parâmetros adaptados à base dos parâmetros do Maldonado (2007)



A tabela 5.3.4 representa os parâmetros utilizados no modelo, baseado nos parâmetros do Pivonka et. al., 2008 e do Pivonka et. al., 2010. Os valores dos parâmetros que representam a taxa de reabsorção óssea (kkres) e a taxa de formação óssea (kkform) diferem dos valores que constam nos artigos originais.

Simbolos	Valor	Unidade	Descrição
OB <sub>u</sub>	1x10 <sup>-2</sup>	pM	Quantidade de OBU
OC <sub>p</sub>	1x10 <sup>-2</sup>	pM	Quantidade de OCp
DOB <sub>u</sub>	7x10 <sup>-2</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de diferenciação de OBU
DOB <sub>p</sub>	2.674x10 <sup>-1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de diferenciação de OBp
AOB <sub>a</sub>	1.89x10 <sup>-1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de eliminação de OBA
DOC <sub>p</sub>	2.1x10 <sup>-1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de diferenciação de OCp
AOCa	7x10 <sup>-1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de apoptose de OCa devido a TGFβ
KKD1TGFβ	4.545x10 <sup>-3</sup>	pM	Coeficiente de activação da ligação de TGFβ com OBU
KKD2TGFβ	1.416x10 <sup>-3</sup>	pM	Coeficiente de repressão da ligação de TGFβ com OBp
KKD3TGFβ	4.545x10 <sup>-3</sup>	pM	Coeficiente de activação da ligação de TGFβ com OCa
KKD4PTH	1.5x10 <sup>2</sup>	pM	Coeficiente de activação devido a PTH
KKD5PTH	1.5x10 <sup>2</sup>	pM	Coeficiente de activação devido a PTH
KKD6PTH	2.226x10 <sup>-1</sup>	pM	Coeficiente de activação devido a PTH
KKD7PTH	2.226x10 <sup>-1</sup>	pM	Coeficiente de activação devido a PTH
KKD8RANKL	4.457x10 <sup>0</sup>	pM	Coeficiente de activação da ligação de RANKL-RANK
RANK	1x10 <sup>1</sup>	pM	Concentração fixa de RANK
RRANKL1	3x10 <sup>6</sup>	-	Número máximo de RANKL na superfície da OBp
RRANKL2	3x10 <sup>6</sup>	-	Número máximo de RANKL na superfície da OBA
βRANKL	1.684x10 <sup>2</sup>	pM dia <sup>-1</sup>	Taxa de produção de RANKL
DDRANKL	1.013x10 <sup>1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de degradação de RANKL
DDOPG	3.5x10 <sup>-1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de degradação de OPG
β1OPG	1.625*10 <sup>8</sup>	pM dia <sup>-1</sup>	Taxa de produção de OPG em OBp
β2OPG	1.625*10 <sup>8</sup>	pM dia <sup>-1</sup>	Taxa de produção de OPG em OBA
OPGmax	2x10 <sup>8</sup>	pM	concentração máxima de OPG
KKA1RANKL	1x10 <sup>-3</sup>	pM <sup>-1</sup>	Associação de ligação de RANKL-OPG
KKA2RANKL	3.412x10 <sup>-2</sup>	pM <sup>-1</sup>	Associação de ligação de RANKL-RANK
DDPTH	8.6x10 <sup>1</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de degradação de PTH
βPTH	2.5x10 <sup>2</sup>	pM dia <sup>-1</sup>	Taxa de produção de PTH
DDTGFβ	1x10 <sup>0</sup>	dia <sup>-1</sup>	Taxa de degradação de TGFβ
α	1x10 <sup>0</sup>	%	Porcentagem de TGFβ armazenada na matriz óssea
kkres	1x10 <sup>2</sup>	% pM <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup>	Taxa de reabsorção óssea
kkform	1.442x10 <sup>2</sup>	% pM <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup>	Taxa de absorção óssea

Tabela 5.3.4 - Parâmetros adaptados à base dos parâmetros do Pivonka et. al. 2010

## 5.4) Simulações e resultados

### 5.4.1) Comportamento estável da remodelação óssea

Os gráficos seguintes representam o comportamento do osso ao longo do tempo em condições normais. O gráfico 5.4.1 representa o comportamento da população óssea de BMU em condições normais.

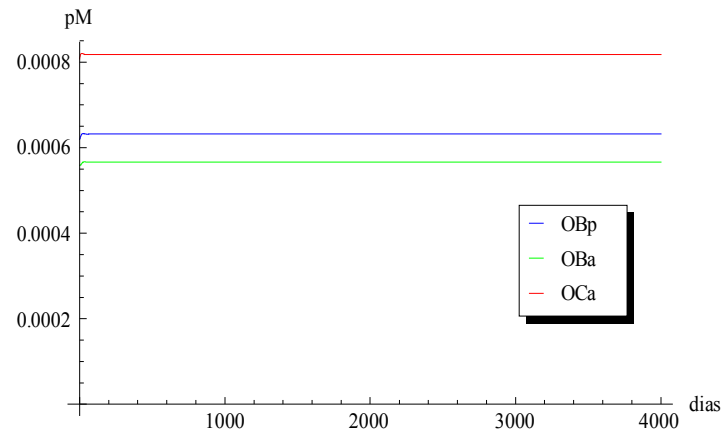


Gráfico 5.4.1 - Variação da população BMU ao longo do tempo em condições normais

O gráfico 5.4.2 representa o volume ósseo em condições normais.

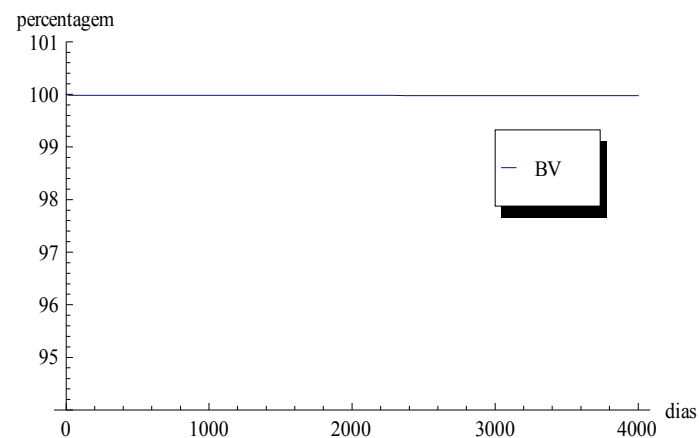


Gráfico 5.4.2 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo em condições normais

O gráfico 5.4.3 representa a razão entre osteoclastos activos e osteoblastos activos (OCa/OBa). Segundo o artigo de Lemaire (2004), a razão entre OCa (0) / OBa (0) (para Lemaire 2004) é  $OCa/OBa \approx 1.25$  que representa o rácio de osso normal. Para o presente modelo o rácio é  $OCa/OBa \approx 1.44$

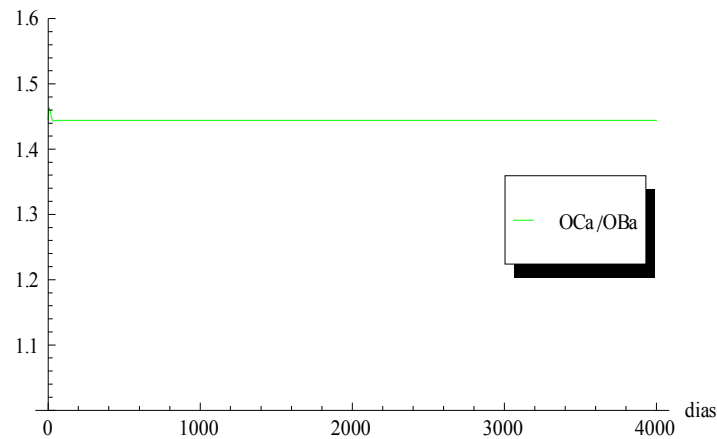


Gráfico 5.4.3 - Rácio entre OCa e OBa (OCa/OBa)

O gráfico 5.4.4 representa o raio do osso em condições normais. É utilizado para demonstrar a variação do raio do osso face à variação de cargas aplicadas ao longo do tempo.

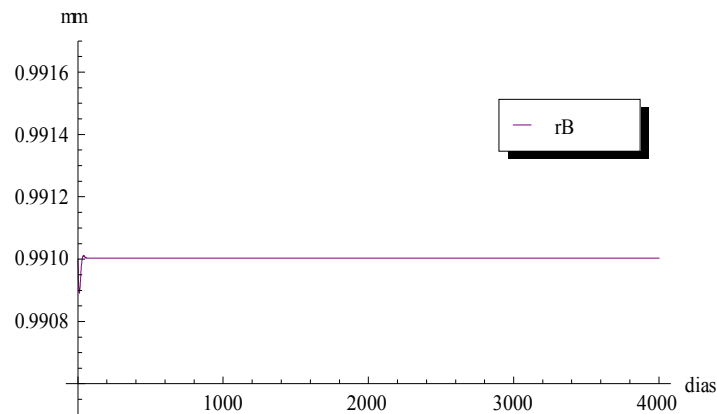


Gráfico 5.4.4 - Variação do raio do osso ao longo do tempo em condições normais

Estes gráficos são utilizados como referência para se caracterizar o osso são. Permite assim, comparar e identificar as variações provocadas pelas doenças e pelos tratamentos terapêuticos.

#### 5.4.2) Simulação de doenças

Para simular doenças através do modelo, é necessário alterar alguns parâmetros para induzir virtualmente a doença. Estas alterações permanecem durante um período de tempo e após este período os parâmetros que sofreram alterações voltarão aos valores normais, isto é, a remoção da doença.

O gráfico 5.4.5 mostra a variação da população de OBp, OBa e OCa ao longo do tempo na simulação virtual da doença, isto é, diminuição de produção de OPG a 90% durante 100 dias.

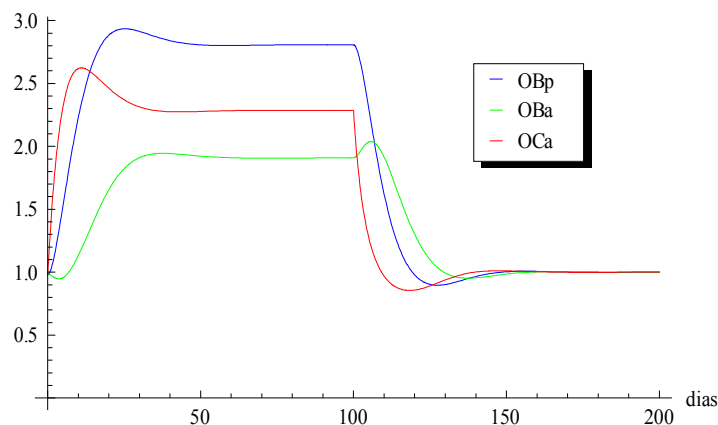


Gráfico 5.4.5 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na ausência de 90% de OPG durante 100 dias

O gráfico 5.4.6 mostra a variação do volume ósseo em função de tempo na diminuição de produção da OPG a 90% durante 100 dias. Através do gráfico, verifica-se que a diminuição da produção de OPG leva à diminuição do volume ósseo.

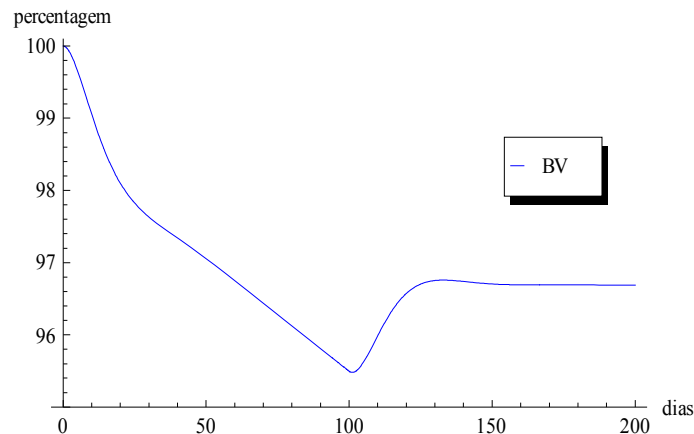


Gráfico 5.4.6 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na ausência de 90% de OPG durante 100 dias

Os comportamentos verificados nos gráficos 5.4.5 e 5.4.6 são possíveis de explicar, através da diminuição de OPG que proporciona o aumento da concentração de RANKL e deste modo promove o aumento dos osteoclastos activos que por sua vez proporcionam o aumento da reabsorção óssea. Por outro lado, como aumentou a actividade da reabsorção óssea, aumenta assim a quantidade de TGF- $\beta$ , proporcionando o aumento das células precursoras de osteoblastos. Como a quantidade das células precursoras de osteoblastos aumentaram, é favorecido também o aumento da quantidade de osteoblastos activos. Após de 80 dias atinge a fase estacionária e verifica-se uma elevada dinâmica da remodelação óssea. Depois da remoção virtual da doença, isto é, a produção de OPG voltar a 100%, o volume ósseo e a população BMU apresentam um comportamento estabilizado.

A figura 5.4.1 mostra os gráficos presentes no artigo Pivonka et al. 2010 que representam a simulação virtual da doença. O gráfico a) representa a variação do volume ósseo ao longo do tempo e o gráfico b) representa a variação da população de BMU normalizada face ao tempo. Ao comparar os gráficos 5.4.5 e 5.4.6 com os gráficos da figura 5.4.1, verifica-se que apresentam comportamentos semelhantes. Isto mostra que o modelo implementado permite simular qualitativamente resultados da mesma natureza, gerados pelo modelo do Pivonka 2010.

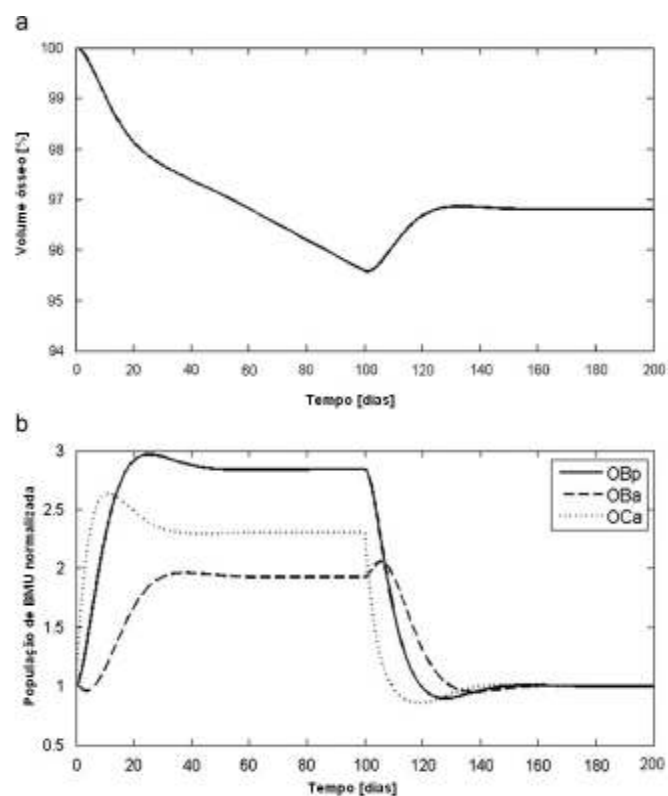


Figura 5.4.1 - Gráficos que representam a simulação virtual de doença - diminuição de 90% de OPG durante 100 dias. a) Variação do volume ósseo ao longo do tempo. b) Variação da população de BMU normalizada ao longo do tempo. Pivonka et. al. (2010) (adaptado)

O gráfico 5.4.7 mostra o comportamento da OPG ao longo do tempo na presença da doença virtual. A sua variação da concentração coincide com o a diminuição de 90% da OPG durante os 100 dias.

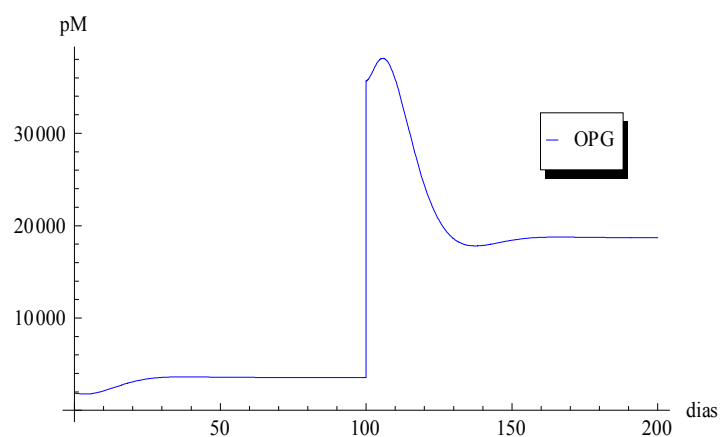


Gráfico 5.4.7 - Variação da quantidade de OPG ao longo do tempo com a diminuição de 90% de OPG durante 100 dias

O gráfico 5.4.8 representa a variação da concentração da RANKL livre ao longo do tempo com a diminuição de 90% da OPG durante 100 dias. A sua variação da concentração da RANKL depende da disponibilidade dos receptores RANK em osteoclastos e da concentração de OPG. Para o presente caso, devido à diminuição da quantidade da OPG, deu-se o aumento da quantidade de RANKL livres.

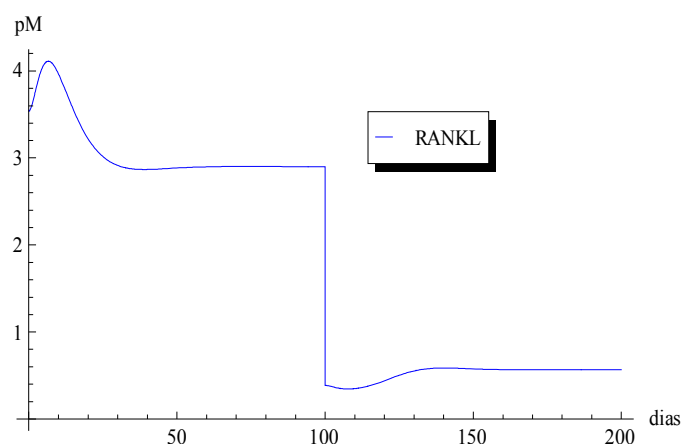


Gráfico 5.4.8 - Variação da RANKL livre ao longo do tempo na diminuição de 90% de OPG durante 100 dias

Existem várias doenças relacionadas com o osso. No artigo Lemaire et. al. (2004) são analisadas e simuladas algumas doenças como a deficiência de calcitriol ( $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}$ ), a senescência e a osteoporose induzida por glucocorticóide (GIO). Pretende-se com o modelo implementado, reproduzir qualitativamente estas doenças. As simulações são ajustadas de modo a que a reabsorção óssea provocada pela doença atinja aproximadamente 95% do volume ósseo dentro de 300 dias.

Segundo Lemaire (2004), a simulação da GIO é associada através do decréscimo de OBp. Para efectuar este decréscimo, multiplica-se 0.8 ao parâmetro  $\text{DOB}_u$ . A GIO é caracterizada pela diminuição da formação óssea, pela diminuição das células progenitoras de osteoblastos e pela diminuição da actividade da remodelação óssea. Verifica-se que a glucocorticóide promove a diminuição de Cbfa-1, este último, é um factor relevante para a diferenciação de osteoblastos e a sua ausência resulta na incapacidade de formação óssea [Lemaire et. al., 2004]. Esta simulação decorre durante 300 dias (entre os dias 200 e 500).

O gráfico 5.4.9 mostra a variação da população de BMU na simulação da doença osteoporose induzida por glucocorticóide. Segundo o gráfico, verifica-se que durante o intervalo da simulação da doença, a população de osteoclastos aumentou significativamente, enquanto

que as populações de osteoblastos activos e precursoras de osteoblastos diminuíram consideravelmente.

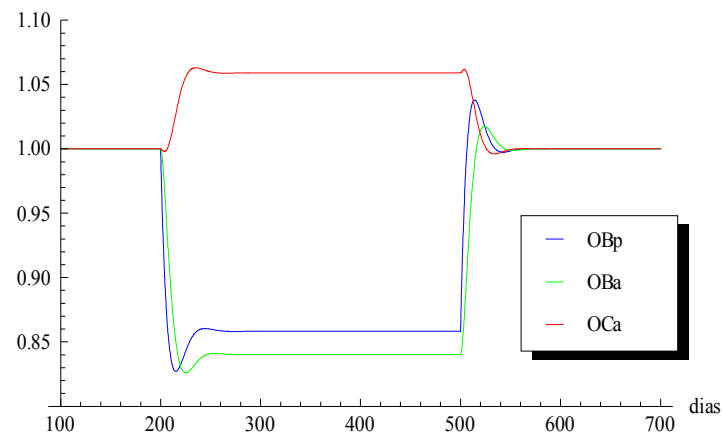


Gráfico 5.4.9 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na simulação da GIO durante 300 dias

O gráfico 5.4.10 demonstra a variação do volume ósseo (BV) na simulação da GIO. O gráfico mostra que a doença provoca uma reabsorção óssea de 5% do volume ósseo durante 300 dias. Após 300 dias, a doença é virtualmente removida da simulação e o volume ósseo estabiliza aproximadamente nos 94.5% do volume ósseo.

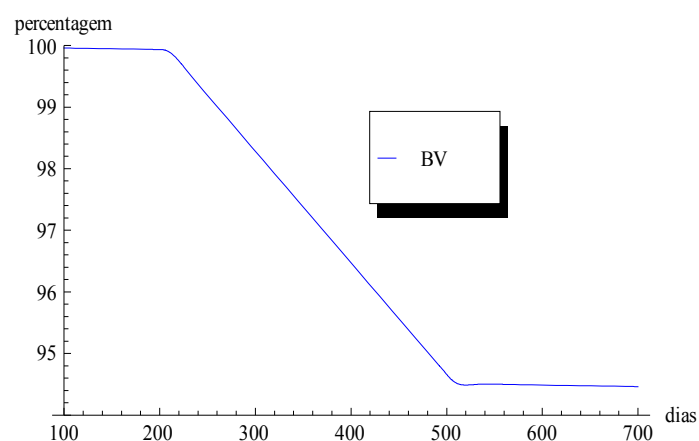


Gráfico 5.4.10 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da GIO durante 300 dias



O gráfico 5.4.11 representa a variação do rácio  $OCa/OBa$  na simulação da GIO. No intervalo entre os dias 200 e 500, atinge-se  $OCa/OBa = 1.8$ .

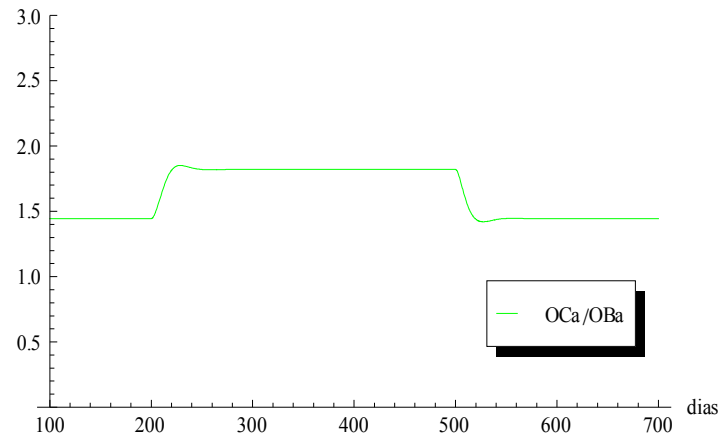


Gráfico 5.4.11 - Variação do rácio  $OCa/OBa$  ao longo do tempo na simulação da GIO durante 300 dias

A simulação da senescência associa-se à diminuição de TGF- $\beta$  armazenada nos ossos. Para este efeito multiplica-se  $\alpha$  pelo factor 0.8, o que representa a percentagem de TGF- $\beta$  armazenada no osso.

O gráfico 5.4.12 mostra o comportamento da população de BMU na simulação da senescência.

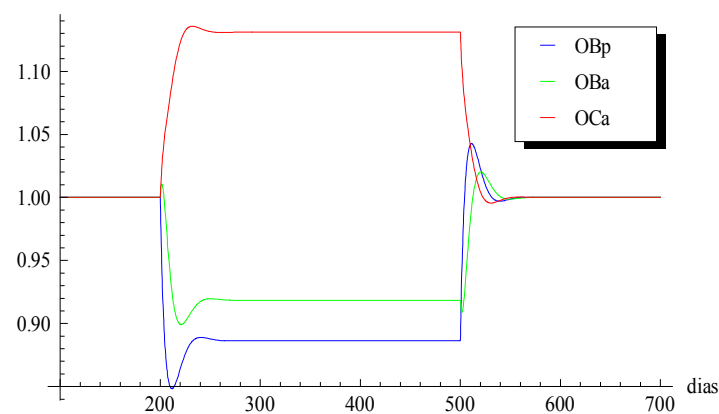


Gráfico 5.4.12 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na simulação da senescência durante 300 dias

O gráfico 5.4.13 mostra a variação do volume ósseo (BV) na simulação da senescência. Através do gráfico, verifica-se que a doença provoca uma reabsorção óssea ligeiramente superior a 5% do volume ósseo durante 300 dias. A doença é virtualmente removida da simulação após 300 dias e o volume ósseo permanece estável nos 94.5% do volume ósseo.

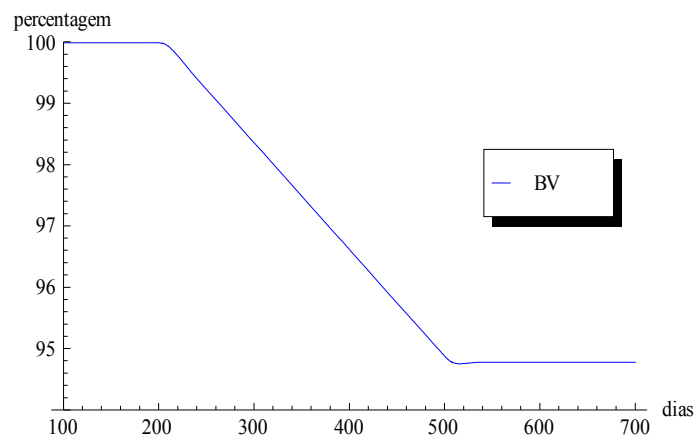


Gráfico 5.4.13 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da senescência durante 300 dias

O gráfico 5.4.14 representa a variação do rácio  $OC_a/OB_a$  na simulação da senescência. No intervalo entre os dias 200 e 500, atinge-se  $OC_a/OB_a = 1.8$ .

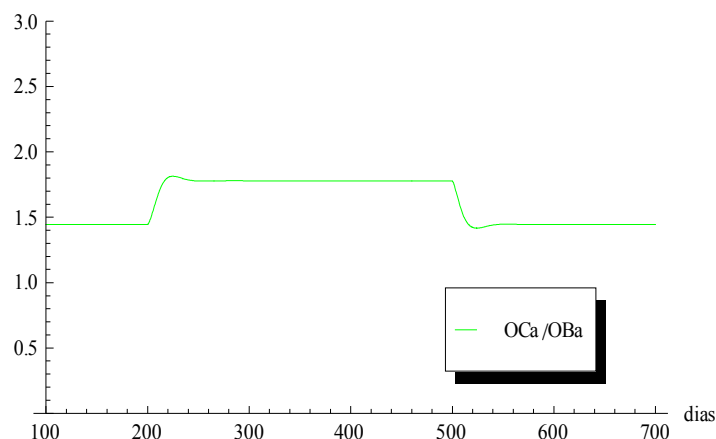


Gráfico 5.4.14 - Variação do rácio  $OC_a/OB_a$  ao longo do tempo na simulação da senescência durante 300 dias

A simulação da deficiência da calcitriol ( $1,25-(OH)_2D$ ) relaciona-se com o aumento da quantidade da PTH uma vez que a calcitriol é o factor que promove a diminuição da síntese da PTH e da produção dos receptores da PTH. Ao verificar a deficiência da calcitriol, promove-se o aumento da quantidade da PTH e dos receptores da PTH [Lemaire et. al., 2004]. Para este efeito, multiplica-se o factor 4 pela quantidade de PTH.

O gráfico 5.4.15 mostra o comportamento da população de BMU na simulação da deficiência da calcitriol.

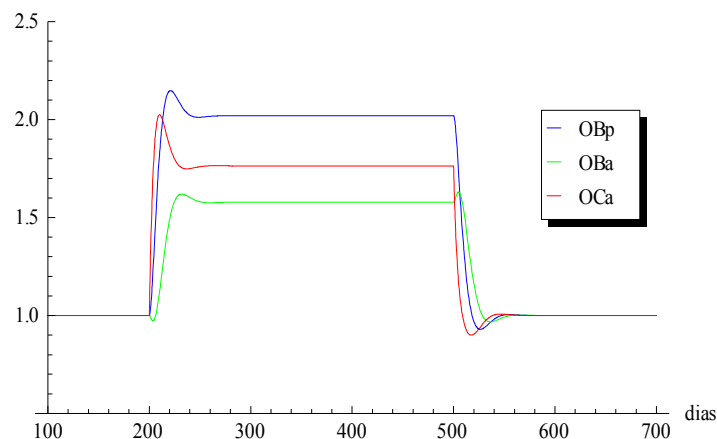


Gráfico 5.4.15 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol durante 300 dias

O gráfico seguinte, gráfico 5.4.16, ilustra a variação do volume ósseo (BV) na simulação da deficiência da calcitriol. A reabsorção provocada pela doença atinge os 95% de volume ósseo durante 300 dias. Após 300 dias, a doença é virtualmente removida da simulação e o volume ósseo estabiliza aproximadamente nos 96.5% do volume ósseo.

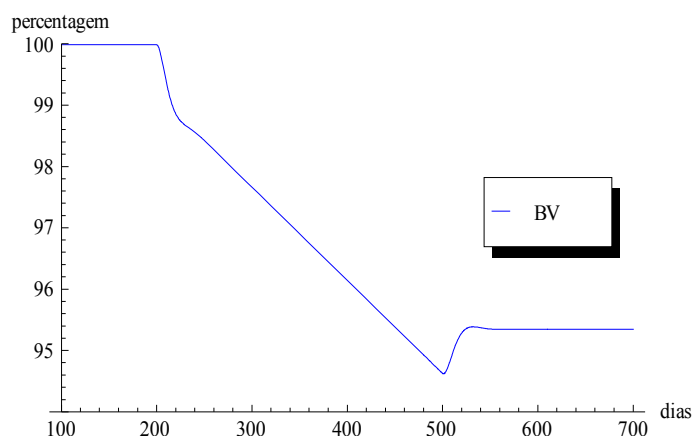


Gráfico 5.4.16 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol durante 300 dias

O gráfico 5.4.17 mostra a variação do rácio  $OC_a/OB_a$  na simulação da deficiência da calcitriol. No dia 200 verifica-se um aumento significativo enquanto que no dia 500 verifica-se uma diminuição do rácio  $OC_a/OB_a$ . Este facto coincide com os momentos da introdução e da remoção do PTH, o que mostra que a população de BMU é sensível à variação da PTH.

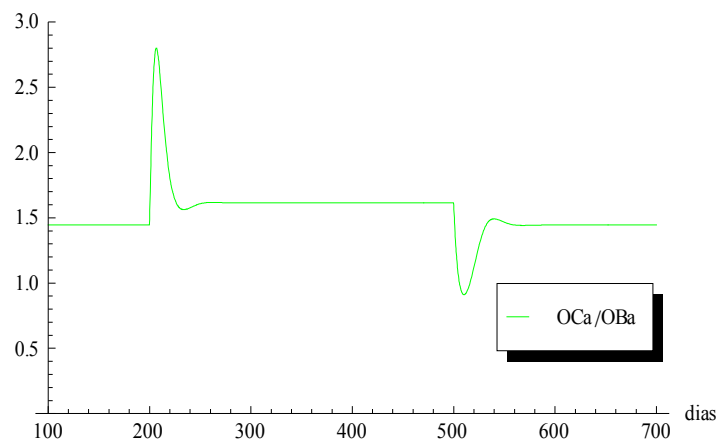


Gráfico 5.4.17 - Variação do rácio OCa/OBa ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol durante 300 dias

### 5.4.3) Simulação de tratamentos terapêuticos

As simulações de tratamentos terapêuticos são constituídas por três partes. Na primeira parte, simulam-se doenças em condições semelhantes às que foram mencionadas no capítulo 5.4.2. Isto é, a severidade das doenças é ajustada de modo a que a reabsorção óssea atinja aproximadamente 95% do volume ósseo dentro de 300 dias. A única condição diferente é a de que o período da manifestação da doença se inicia no dia 200 e termina no dia 3000. Na segunda parte, os tratamentos terapêuticos iniciam-se no dia 500 (300 dias depois do início da manifestação da doença) e terminam no dia 2300. O período de tratamento é de 1800 dias o que equivale aproximadamente a um intervalo de 5 anos. Este período de tratamento é sugerido pelo Pivonka 2010. O objectivo do tratamento terapêutico consiste na reparação óssea e em atingir aproximadamente 99% do volume ósseo. A terceira parte é a fase de manutenção que tem como objectivo estabilizar o volume ósseo, inicia-se no dia 2300 e termina no dia 3000. O período de manutenção é de 700 dias o que equivale aproximadamente a 2 anos. A simulação da doença e do tratamento terapêutico tem um período total de 2800 dias. A figura 5.4.2 ilustra a cronologia da simulação da doença e do tratamento terapêutico.

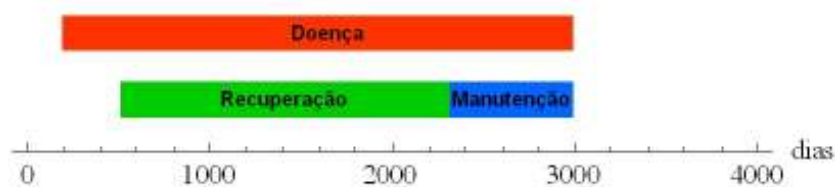


Figura 5.4.2 - Cronologia para a simulação da doença e do tratamento terapêutico

Segundo Pivonka (2010), os tratamentos clínicos de doenças ósseas são baseados no volume ósseo (massa óssea) e na actividade das BMU (bone turnover) como critérios para a classificação de tratamentos anabólicos ou anti-catabólicos. Os tratamentos anabólicos estão associados com a elevada taxa de diferenciação da  $OB_u$  e com a taxa de apoptose da  $OB_a$ . Estes tratamentos promovem uma elevada taxa de formação óssea e uma elevada actividade de BMU. Os tratamentos anti-catabólicos estão associados à alteração das taxas de diferenciação e de apoptose de osteoclastos. Este tipo de tratamento promove uma recuperação lenta e de baixa actividade de BMU [Pivonka et. al., 2010]

As condições da simulação do tratamento terapêutico são baseadas em alguns critérios do artigo Pivonka et. al. 2010 e são ajustadas para o presente modelo. Durante o período de recuperação (1800 dias), o tratamento escolhido tem que restaurar o volume ósseo (no mínimo 99%) e a dinâmica da remodelação óssea (*bone turnover*) deve variar aproximadamente entre  $\pm 50\%$  da sua quantidade da fase estabilizada.

Com este modelo, pretende-se simular tratamentos terapêuticos para a osteoporose induzida por glucocorticóide (GIO), senescência e a deficiência da calcitriol ( $1,25-(OH)_2D$ ). A simulação seguinte trata da GIO e o seu tratamento terapêutico. A simulação da doença GIO, mencionada no capítulo 5.4.2 é efectuada através da diminuição da diferenciação  $OB_u$ , multiplicando  $DOB_u$  por um factor de 0.8. Lemaire et. al. 2004 sugere a diminuição da taxa de apoptose de  $OBA$  para o tratamento terapêutico. Para este efeito, na fase de recuperação a taxa de apoptose é multiplicada por um factor de 0.78 e na fase de manutenção é ajustada por um factor de 0.804. O gráfico 5.4.18 representa o comportamento da população normalizada de BMU na presença de doença (GIO) e do seu tratamento terapêutico.

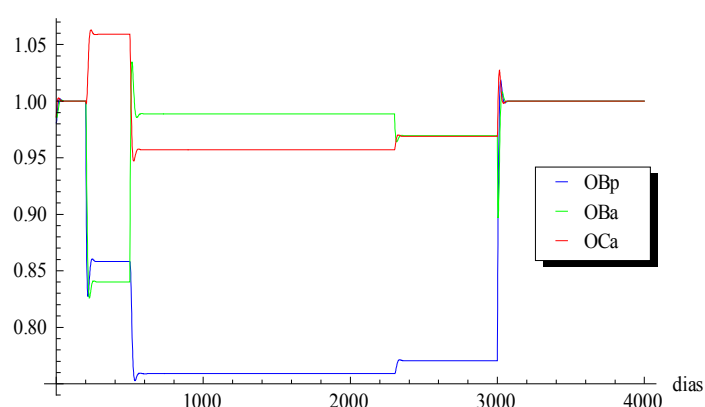


Gráfico 5.4.18 - Variação da população normalizada de BMU ao longo do tempo na simulação da GIO do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

O gráfico 5.4.19 representa a simulação do comportamento do volume ósseo ao longo de 2800 dias, na presença da GIO e do seu tratamento terapêutico.

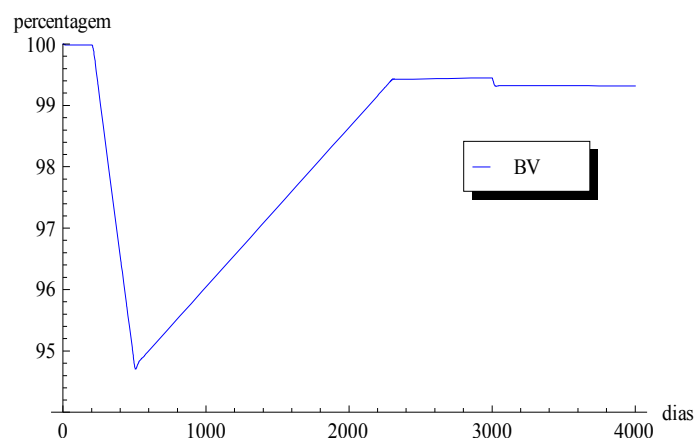


Gráfico 5.4.19 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da GIO e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

O gráfico 5.4.20 representa o rácio  $OC_a/OB_a$  que corresponde à simulação da GIO e seu respectivo tratamento terapêutico. Segundo o gráfico, entre os dias 200 e 500 que correspondem apenas à presença da doença, o rácio da  $OC_a/OB_a$  é aproximadamente 1.8. Este valor representa um aumento da quantidade de  $OC_a$ , o que proporciona maior actividade de reabsorção óssea. Na fase de recuperação o rácio é inferior ao valor 1.44 (rácio do osso normal), o que significa maior actividade de formação óssea. Na fase de manutenção o rácio situa-se no valor 1.44 o que corresponde à ausência de formação e de reabsorção óssea, mantendo assim a estabilidade do volume ósseo.

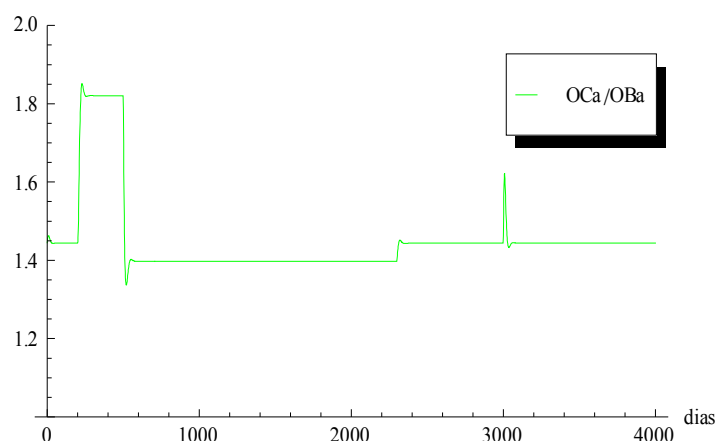


Gráfico 5.4.20 - Variação do rácio  $OC_a/OB_a$  ao longo do tempo na simulação da GIO e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

O gráfico 5.4.21 ilustra o comportamento da simulação da GIO e do tratamento terapêutico através da dinâmica da remodelação óssea. Através do gráfico, verifica-se uma baixa actividade da BMU.

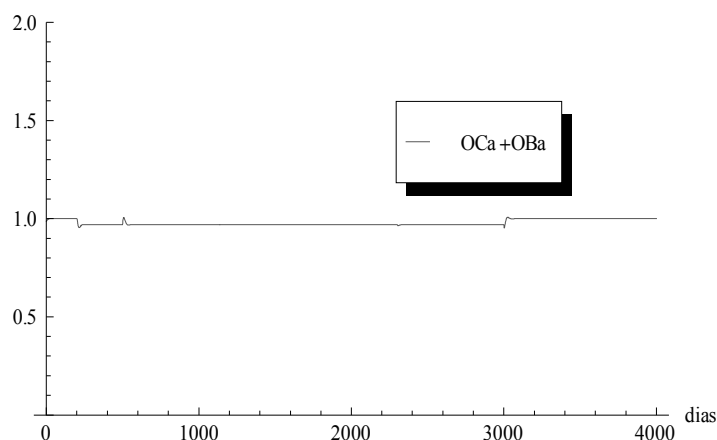


Gráfico 5.4.21 - Variação da dinâmica da remodelação óssea ao longo do tempo na simulação da GIO e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

As simulações da senescência e o seu tratamento terapêutico são representadas através dos seguintes gráficos. Segundo o artigo proposto por Lemaire (2004), a senescência está associada à concentração de TGF- $\beta$  armazenada no osso. Para este efeito, o parâmetro  $\alpha$ , que representa a concentração de TGF- $\beta$ , é multiplicado pelo factor 0.8 para diminuir a sua concentração. No tratamento sugere-se o aumento da taxa de diferenciação de  $OB_u$  - DOBu. Este tratamento é efectuado em duas fases, na fase de recuperação a taxa de diferenciação de DOBu é multiplicada por um factor de 1.26 e na fase de manutenção é ajustada por um factor de 1.223. O gráfico 5.4.22 mostra o comportamento da simulação da senescência e do respectivo tratamento através da população normalizada de BMU.

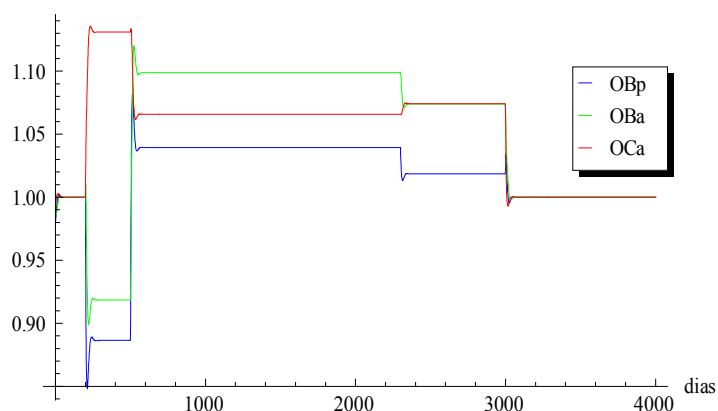


Gráfico 5.4.22 - Variação da população normalizada de BMU ao longo do tempo na simulação da senescência do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

O gráfico 5.4.23 representa a simulação do comportamento do volume ósseo ao longo de 2800 dias, na presença da senescência e do tratamento terapêutico.

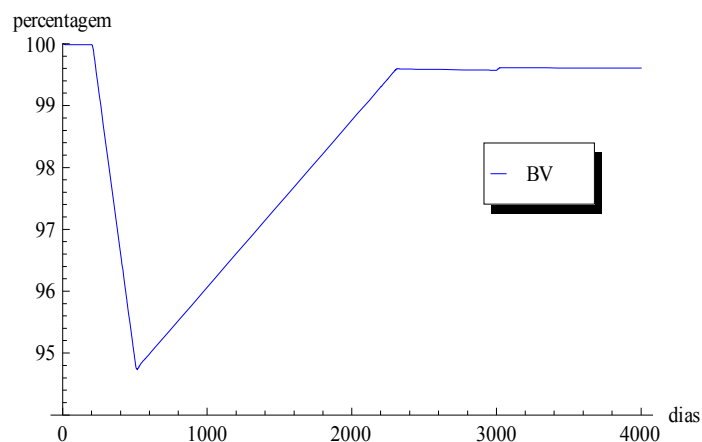


Gráfico 5.4.23 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da senescência e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

O gráfico 5.4.24 demonstra a simulação da senescência e o seu respectivo tratamento terapêutico, representado pelo rácio  $OC_a/OB_a$ , o que permite visualizar o comportamento e a variação da actividade da BMU. Segundo o gráfico, no período de manifestação da doença, entre o dia 200 e o dia 500, o rácio de  $OC_a/OB_a$  é igual a 1.8. Este valor mostra um aumento da população de  $OC_a$ , o que representa maior actividade de reabsorção óssea. Na fase de recuperação o rácio é inferior ao valor 1.44 (rácio do osso normal), o que significa a presença da actividade de formação óssea. Na fase de manutenção, o rácio estabelece no valor 1.44 o que corresponde à estabilidade do volume ósseo.

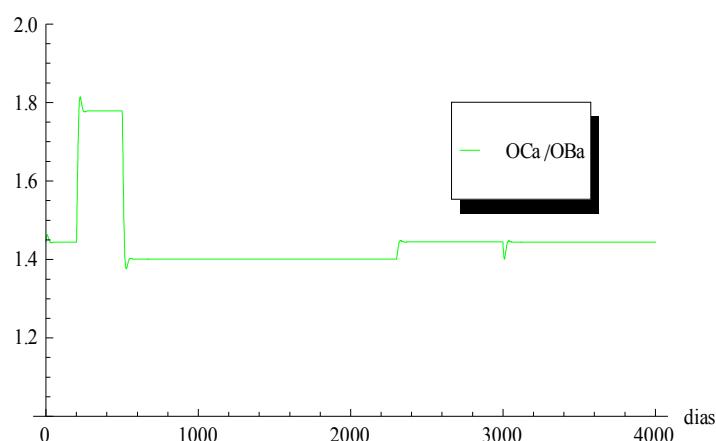


Gráfico 5.4.24 - Variação do rácio  $OC_a/OB_a$  ao longo do tempo na simulação da senescência e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias



O gráfico 5.4.25 ilustra o comportamento da simulação da senescência e o tratamento terapêutico através da dinâmica da remodelação óssea que é deduzida pela soma da quantidade de população de OCa e de OBa,

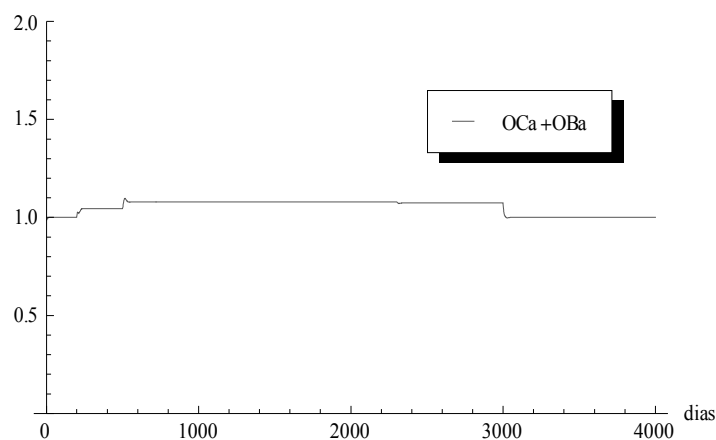


Gráfico 5.4.25 - Variação da dinâmica da remodelação óssea ao longo do tempo na simulação da senescência e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

A simulação seguinte trata-se da deficiência da calcitriol e o seu respectivo tratamento terapêutico. Para simular a deficiência da calcitriol, multiplica-se o factor 4 pela quantidade de PTH. Segundo Lemaire (2004), é sugerida a administração externa de OPG e o aumento da taxa de diferenciação de DOBu. Para este efeito, na fase de recuperação a administração externa de OPG é de 2300 pM dia<sup>-1</sup> e a taxa de diferenciação é multiplicada por um factor de 1.08. Na fase de manutenção a administração externa de OPG é ajustada para 2200 pM dia<sup>-1</sup> e a taxa de diferenciação é multiplicada por um factor de 1.06. O gráfico 5.4.26 representa o comportamento da população normalizada de BMU na presença da deficiência da calcitriol e do seu respectivo tratamento terapêutico.

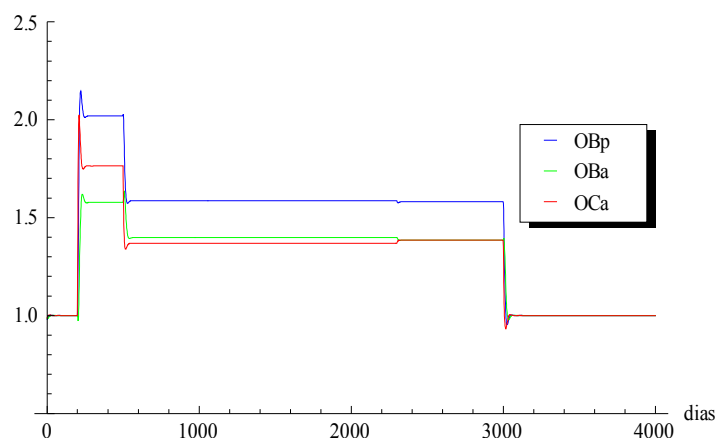


Gráfico 5.4.26 - Variação da população de BMU ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

O gráfico 5.4.27 refere-se à simulação do comportamento do volume ósseo face à deficiência da calcitriol e ao seu tratamento terapêutico. O período da simulação são 2800 dias.

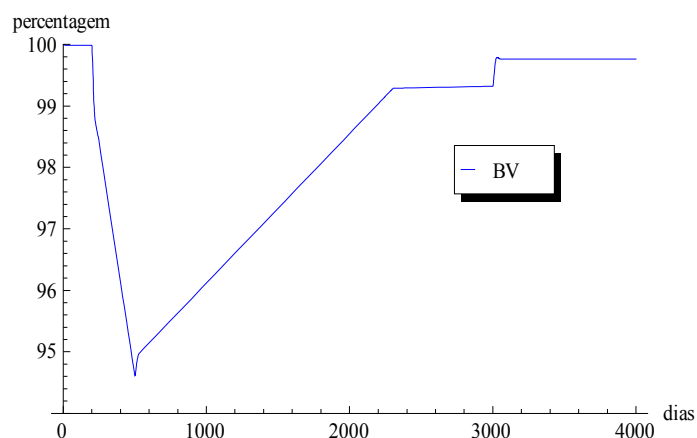


Gráfico 5.4.27 - Variação do volume ósseo ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

O gráfico 5.4.28 mostra o rácio  $OC_a/OB_a$ , permitindo visualizar o comportamento e a proporção da variação da BMU. Segundo o gráfico, o modelo é sensível à variação da quantidade de PTH, uma vez que ao induzir e ao retirar a PTH do sistema, reage de modo significativo à proporção de  $OC_a/OB_a$ .

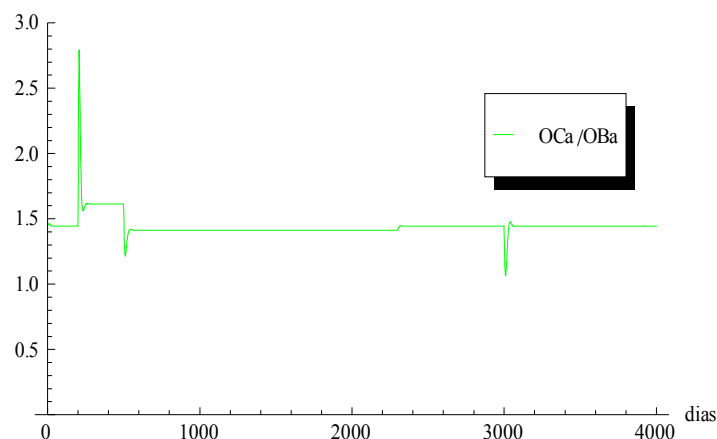


Gráfico 5.4.28 - Variação do rácio  $OC_a/OB_a$  ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

O gráfico 5.4.29 mostra a dinâmica da remodelação óssea que é deduzida pela soma da quantidade de população de  $OC_a$  e de  $OB_a$ , representada pela expressão  $OC_a + OB_a$ . O gráfico é

normalizado através do ponto fixo das populações do  $OC_a$  e de  $OB_a$ . Assim, permite-se a visualização do comportamento e da proporção da variação da dinâmica da remodelação óssea.

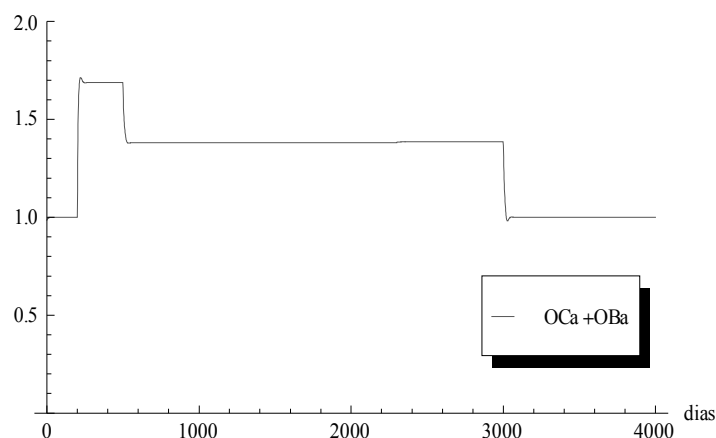


Gráfico 5.4.29 - Variação da dinâmica da remodelação óssea ao longo do tempo na simulação da deficiência da calcitriol e do seu tratamento terapêutico durante 2800 dias

#### 5.4.4) Simulação da aplicação de forças externas nos ossos

Os gráficos seguintes representam simulações resultantes da aplicação de forças externas, analisando-se assim o comportamento da remodelação óssea, da população de BMU e do comportamento do osso. A força virtual é aplicada axialmente sobre a área do osso. A força externa virtual varia ao longo do tempo de acordo com as seguintes condições: para condições físicas normais assume-se que a força é de 1N sendo aplicada entre os dias 0 e 250; nos dias 250 a 350 a força aplicada é de 5N; nos dias 350 a 450 a força aplicada é de 10N; entre os dias 450 a 500 é de -6N, o que representa o caso de desuso; e a partir do dia 500 a força aplicada é 1N. As condições referidas são baseadas no artigo do Maldonado (2007). A figura 5.4.3 ilustra a cronologia de um ciclo de aplicação da carga externa.

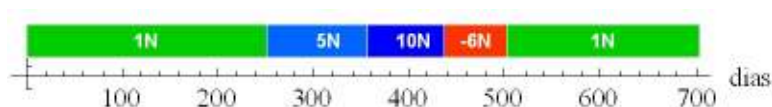


Figura 5.4.3 - Cronologia para a simulação de aplicação da carga externa

O gráfico 5.4.30 mostra a simulação da variação da população normalizada da  $OB_p$ , da  $OB_a$  e da  $OC_a$  face à aplicação virtual de uma força externa ao longo do tempo. Quanto maior for a força aplicada maior será a quantidade de células de osteoblastos, e quando a força for inferior a zero, a quantidade da população de osteoblastos diminuirá. Por outro lado, nas mesmas condições de forças, os  $OC_a$  apresentam comportamentos opostos. Isto é, segundo as

condições utilizadas, quando a força aplicada aumenta, diminui a quantidade de  $OC_a$  e quando a força diminui, aumenta a quantidade da população de  $OC_a$ . Neste gráfico, simulado pelo modelo implementado, demonstra-se o comportamento da população de BMU que corresponde aos princípios de que quando o osso é estimulado adequadamente leva à formação óssea.

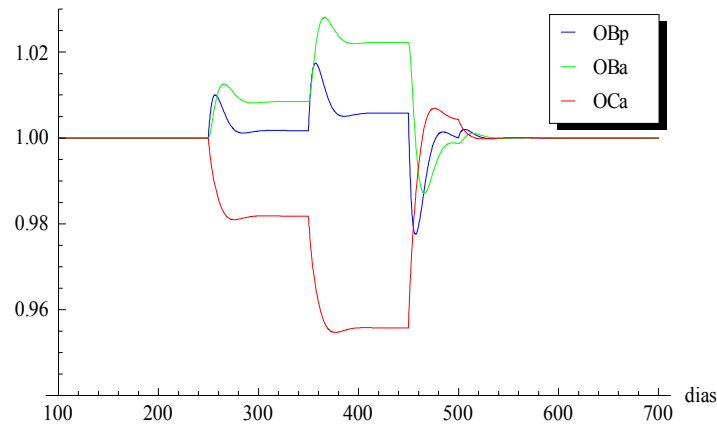


Gráfico 5.4.30 - Variação da população de BMU normalizada face à presença de força externa que varia ao longo do tempo

O gráfico 5.4.31 representa o comportamento da variação da  $OB_p$ , da  $OB_a$  e da  $OC_a$  face à aplicação virtual de força externa ao longo do tempo. A concentração da população de BMU varia consoante a magnitude das forças ao longo do tempo.

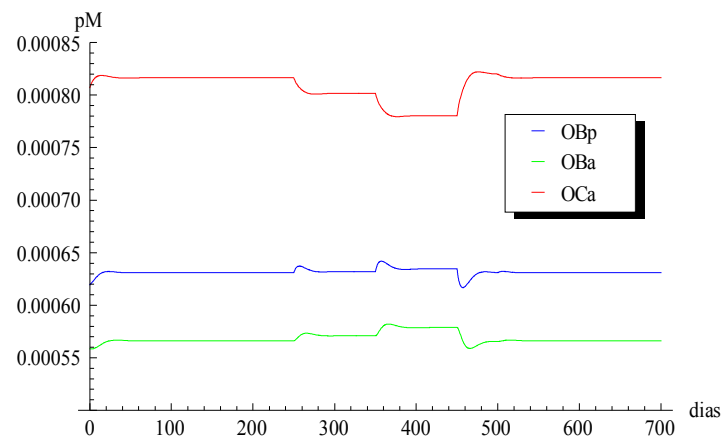


Gráfico 5.4.31 - Variação da população de BMU face à presença de força externa que varia ao longo do tempo

No gráfico 5.4.32 visualiza-se a variação de osteócitos ao longo do tempo face à variação das forças externas. A variação da quantidade de osteócitos depende da variação da quantidade de  $OB_a$

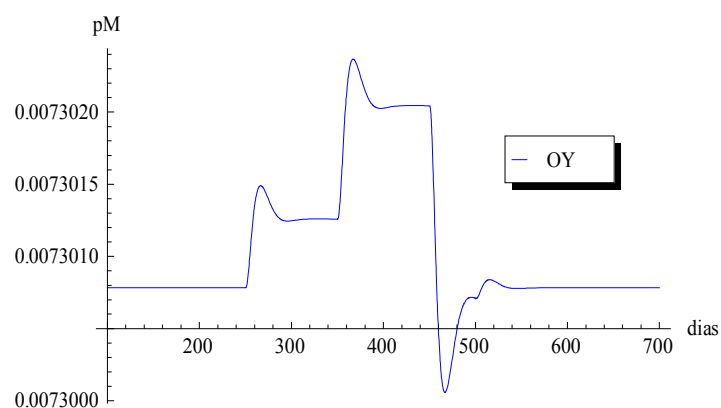


Gráfico 5.4.32 - Variação da quantidade de osteócitos face à presença de força externa que varia ao longo do tempo

O gráfico 5.4.33 representa a variação do raio do osso face à aplicação virtual de força externa ao longo do tempo. Verifica-se que quanto maior for o estímulo mecânico maior será o raio do osso.

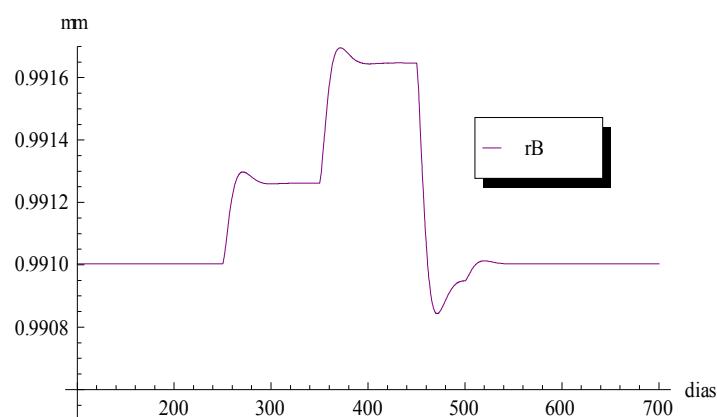


Gráfico 5.4.33 - Variação do raio do ósseo face à presença de força externa que varia ao longo do tempo

Os gráficos seguintes mostram a comparação das simulações de forças aplicadas de modelos diferentes. São comparadas as simulações de Maldonado (2007) e as do presente modelo.

O gráfico 5.4.34 representa a comparação do comportamento dos raios dos ossos, simulados por Maldonado (2007) e pelo presente modelo. Verifica-se que apresentam comportamentos semelhantes na presença de cargas externas.

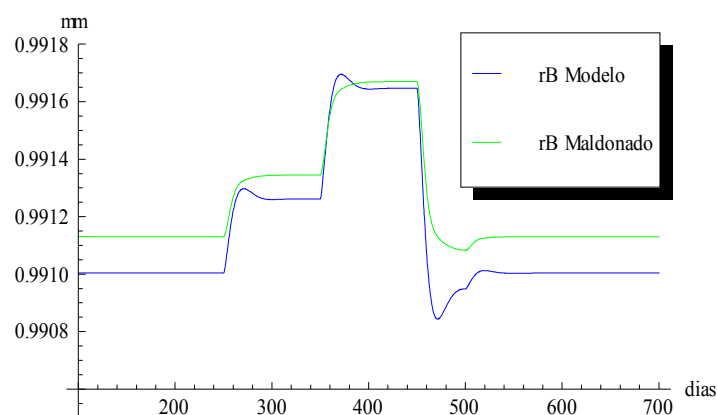


Gráfico 5.4.34 - Compação de resultados da variação do raio do osso na presença de força externa que varia ao longo do tempo simulado pelo modelo do Maldonado e o modelo corrente

O gráfico 5.4.35 ilustra os comportamentos das populações de OBa e de OCa das simulações do Maldonado e das simulações efectuadas pelo presente modelo. Ambas as simulações foram sujeitas as mesmas condições de variação de magnitude de cargas externas. Ao comparar os comportamentos das populações, verifica-se que as populações da mesma natureza apresentam comportamentos semelhantes. Isto é, a população de OBa do Modelo comporta-se de modo semelhante à população OBa de Maldonado e a população de OCa do Modelo comporta-se de maneira semelhante relativamente à população OCa de Maldonado

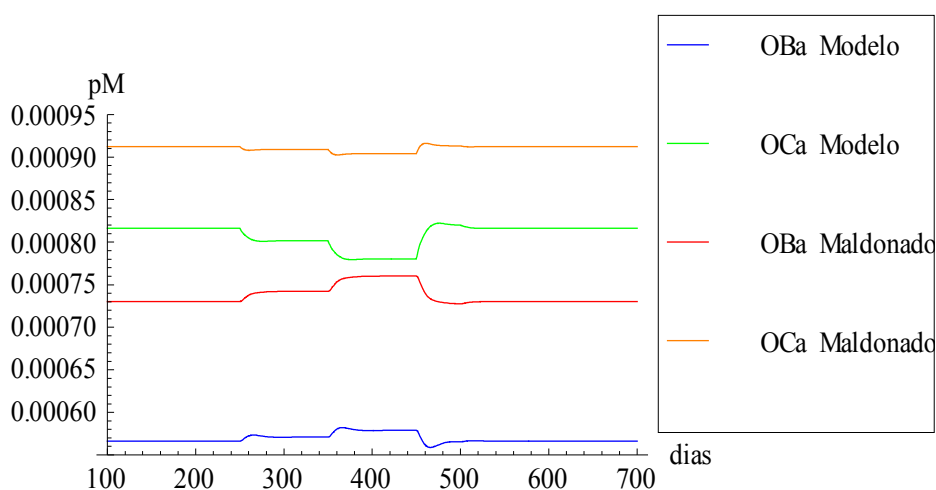


Gráfico 5.4.35 - Comparação de resultados da variação da quantidade das células de OCa e de OBa na presença de força externa que varia ao longo do tempo, simulado pelo modelo do Maldonado e o modelo corrente

O gráfico 5.4.36 ilustra a comparação do comportamento dos raios dos ossos na presença de doenças, simulados por Maldonado. Verifica-se que apresentam um aumento de raio do osso quando são estimulados devidamente.

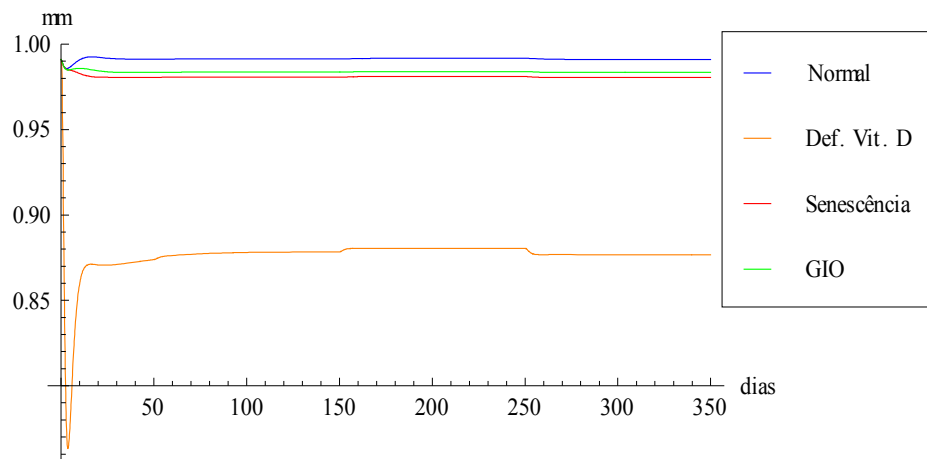


Gráfico 5.4.36 - Variação do raio do osso quando é submetido a estímulos mecânicos na presença de doenças. Simulado pelo modelo do Maldonado

O gráfico 5.4.37 representa a comparação do comportamento dos raios dos ossos na presença de doenças e de estímulo mecânico, simulados pelo presente modelo. Ao analisar o comportamento dos raios dos ossos entre os 2 modelo, verifica-se que apresentam comportamentos semelhantes ao nível qualitativo, quanto à resposta aos estímulos mecânicos.

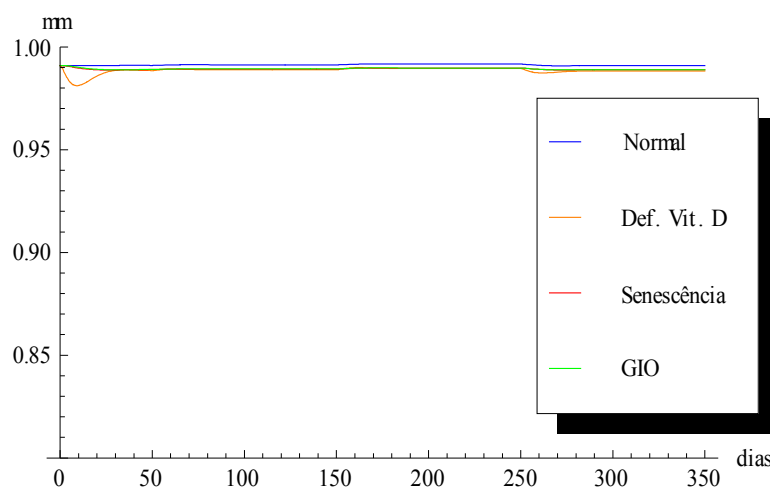


Gráfico 5.4.37 - Variação do raio do osso quando é submetido a estímulos mecânicos na presença de doenças. Simulado pelo presente modelo

O gráfico 5.4.38 representa o gráfico 5.4.37 com adaptação da escala que permite uma melhor visualização do comportamento do raio do osso.

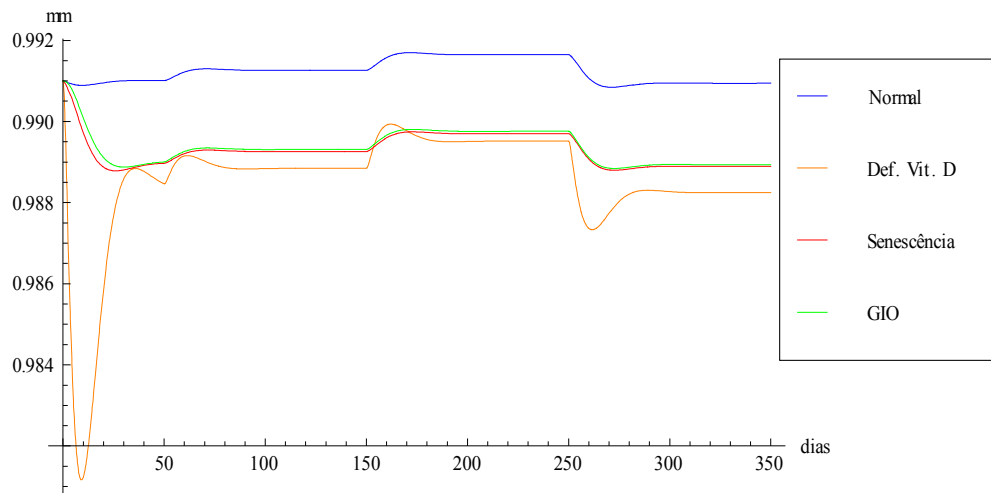


Gráfico 5.4.38 - Variação do raio do osso quando é submetido a estímulos mecânicos na presença de doenças. Simulado pelo presente modelo (adaptação da escala)

Verifica-se uma diferença quantitativa entre os dois modelos, na simulação do comportamento do raio do osso com a presença de doença e de estímulos mecânicos. Esta diferença de resultados poderá relacionar-se com os seguintes motivos:

- A utilização de modelos diferentes (Lemaire 2004 e Pivonka 2010) para simular a parte metabólica;

- O modo como se simula a doença. Segundo Maldonado, as doenças são ajustadas ao rácio  $OC_a/OB_a = 5$  (critério estabelecido por Lemaire 2004 que corresponde à "osteoporose severa"). Enquanto que o presente modelo simula as doenças baseando-se nas condições do Pivonka 2010, quanto à percentagem do volume ósseo e da dinâmica da remodelação óssea, e nas condições do Lemaire 2004 para recriar as doenças e os tratamentos, isto é, as causas das doenças e os seus respectivos tratamentos terapêuticos.

Ao comparar os gráficos 5.4.36 e 5.4.37, verifica-se que o comportamento da deficiência da vitamina D do gráfico 5.4.36 diminuiu significativamente nos primeiros 10 dias. Este comportamento pode ser pouco realista. Relativamente ao gráfico 5.4.37, simulado pelo presente modelo, o comportamento do raio do osso na presença da deficiência da vitamina D é semelhante aos da senescência e da GIO. Os resultados presentes são apenas simulações e é necessário uma cooperação constante com os experimentalistas. Pois, é relevante averiguar a veracidade dos resultados simulados e também melhorar o desempenho do modelo.





## 6) Conclusões

O mecanismo da remodelação óssea é um processo complexo e o seu funcionamento ainda não está completamente esclarecido. Sabe-se que o mecanismo da remodelação óssea depende de factores mecânicos (estímulos mecânicos) e metabólicos (interacções celulares e moleculares). O desenvolvimento dos modelos matemáticos no âmbito da remodelação óssea mostra relevância na formulação de novas hipóteses teóricas que são difíceis de concretizar *in vivo* ou *in vitro*. Os modelos matemáticos presentes até à data, que simulam o mecanismo da remodelação óssea, são apenas aproximações à realidade. Os modelos matemáticos que abordam parcialmente no funcionamento da remodelação óssea, destacando apenas o âmbito mecânico ou o âmbito metabólico, não são suficientes para representar o verdadeiro funcionamento da remodelação óssea.

O modelo implementado incide sobretudo na simulação da população de células de osteoclastos e de osteoblastos e nas interacções moleculares, e também na simulação dos estímulos mecânicos, permitindo assim analisar o comportamento da remodelação óssea. O modelo é capaz de simular as doenças e as respectivas estratégias terapêuticas, assim como o comportamento da remodelação óssea na presença de aplicações de cargas externas. Estas simulações são ajustadas de acordo com os artigos mencionados na presente dissertação.

As doenças e as estratégias terapêuticas simuladas pelo modelo são baseadas no artigo Lemaire et. al. (2004). Os parâmetros das doenças simuladas são ajustados de modo a que a diminuição do volume ósseo atinja aproximadamente 95%, num intervalo de 300 dias, baseado no artigo Pivonka et. al. 2010. Os parâmetros dos tratamentos terapêuticos, que consistem na restauração óssea, são ajustados para atingir aproximadamente 99% do volume ósseo, durante 1800 dias. E por último, a fase de manutenção trata da estabilidade do volume ósseo. Os valores utilizados para a manutenção são seleccionados de modo a não se verificar variação do volume ósseo, num período de 700 dias.

Nenhuma das doenças simuladas atingiram o rácio de  $OC_a/OB_a = 5$ . Este valor, estabelecido por Lemaire (2004), corresponde a osteoporose severa. O facto de este valor não ser atingido deve-se, provavelmente, à utilização do modelo do Pivonka (2010) na simulação do comportamento metabólico. É compreensível que haja diferença nos valores e nos resultados quando estes são simulados por modelos matemáticos diferentes.

O valor do rácio  $OC_a/OB_a \approx 1.44$  utilizado no presente modelo, é baseado no método que consta no artigo Lemaire 2004, isto é, o valor do rácio  $OC_0/OB_0$  representa o rácio de condição normal do osso.

Todas as simulações de doenças e de tratamentos terapêuticos conseguiram recuperar o volume ósseo acima dos 99%. Isto significa que os tratamentos utilizados são eficazes perante as respectivas doenças, na recuperação e na manutenção do volume ósseo. Todos os tratamentos terapêuticos cumpriram a condição estabelecida para a dinâmica da remodelação óssea (baseada no Pivonka 2010), isto é, todos os tratamentos efectuados não excederam a margem de  $\pm 50\%$  da sua quantidade de população da fase estabilizada.

Os parâmetros  $kk_{form}$  e  $kk_{res}$  da equação que descreve o volume ósseo (BV) do presente modelo diferem dos valores dos parâmetros  $k_{form}$  e  $k_{res}$  do Pivonka (2010). Os valores  $kk_{form}$  e  $kk_{res}$  são baseados no Pivonka 2008 sendo 1.44 e 1 respectivamente. Estes valores permitem representar o comportamento do mecanismo mas só conduzem a uma pequena variação no volume ósseo (na ordem de 0.1%). Assim, os valores dos parâmetros  $kk_{form}$  e  $kk_{res}$  são 100 vezes superiores ao valor inicial, ajustando deste modo as condições estabelecidas pelo Pivonka et. al. 2010 para simular as doenças.

Existe um pequeno desfasamento de resultados do comportamento do raio do osso e o volume ósseo, na simulação de doenças. Para este efeito, é necessário realizar mais estudos e análises para encontrar uma melhor compatibilidade entre as equações.

Os parâmetros do modelo são baseados nos parâmetros dos artigos do Pivonka 2008 e do Pivonka 2010. As alterações efectuadas nas formulas são baseadas no modelo do Pivonka, que se encontra na seguinte hiperligação [http://models.cellml.org/workspace/pivonka\\_zimak\\_smith\\_gardiner\\_dunstan\\_sims\\_martin\\_mundy\\_2008](http://models.cellml.org/workspace/pivonka_zimak_smith_gardiner_dunstan_sims_martin_mundy_2008).

## **Futuras investigações**

Os modelos e os parâmetros necessitam de uma constante actualização e de ajustamentos, para tornar os resultados mais fiáveis e proporcionar uma maior aproximação a resultados realísticos.

Para as futuras investigações, poderá abordar o comportamento da densidade óssea no modelo em vez do volume ósseo referido no modelo, uma vez que a densidade óssea mostra maior relevância na estrutura óssea.

Os estudos efectuados pelos modelos referidos pela presente dissertação contribuem com informações para o desenvolvimento de modelos mais sofisticados e completos. Os modelos que integram os factores mecânicos e metabólicos são modelos que abrangem factores essenciais, reflectindo o funcionamento da remodelação óssea, e proporcionando resultados com maior aproximação à realidade.

O desenvolvimento dos modelos matemáticos necessita uma actualização contínua de dados experimentais e clínicos para garantir melhores aproximações nos resultados das simulações, e assim, reflectir o verdadeiro comportamento da remodelação óssea.

A necessidade de desenvolvimento dos modelos matemáticos que simulam o mecanismo da remodelação óssea destina-se ao melhoramento da saúde humana. Através dos modelos, podem-se simular virtualmente doenças existentes, de natureza óssea, para encontrar estratégias terapêuticas e desenvolver fármacos apropriados. Os modelos podem ser úteis no âmbito da reabilitação, criando programas personalizados (exercícios e alimentação) para melhorar as condições ósseas.



## Bibliografia

Azenha, A. e Jerónimo, M. A., 1995, *Elementos de Cálculo Diferencial e Integral em R e R<sup>n</sup>*. Editora Mc Graw Hill de Portugal.

Clarke, B., 2008, *Normal Bone Anatomy and Physiology*. Clin J Am Soc Nephrol 3: S131–S139.

Deschaseaux, F., Sensébé, L. e Heymann, D., 2009, *Mechanisms of bone repair and regeneration*. Trends Mol Med;15(9):417-429

García-Aznar, J. M., Rueberg, T., Doblare, M., 2005, *A bone remodelling model coupling microdamage growth and repair by 3D BMU-activity*. Biomech Model Mechanobiol; 4(2-3):147-167.

Giustina, A., Mazziotti, G. e Canalis, C., 2008, *Growth Hormone, Insulin-Like Growth Factors, and the Skeleton*. Endocr Rev; 29(5):535-559

Ilich, J. Z. e Kerstetter, J. Z., 2000, *Nutrition in Bone Health Revisited: A Story Beyond Calcium*. J Am Coll Nutr;19(6):715-737.

Jang, I. G., Kim, I. Y., 2009, *Computational simulation of simultaneous cortical and trabecular bone change in human proximal femur during bone remodeling*. J Biomech; 43(2): 294-301.

Jensene, E. D., Gopalakrishnan, R., e Westendor, J. J., 2010, *Regulation of Gene Expression in Osteoblasts*. Biofactors;36(1):25-32.

Junqueira, L. e Carneiro, J., 1999, *Histologia Básica*. 9ª edição, Editora Guanabara Koogan S.A.. Rio de Janeiro.

Kingsley, L. A, Fournier, P. G., Chirgwin, J.M., Guise, T. A., 2007, *Molecular biology of bone metastasis*. Mol Cancer Ther; 6(10):2609-17.

Komarova, S. V., 2005, *Mathematical Model of Paracrine Interactions between Osteoclasts and Osteoblasts Predicts Anabolic Action of Parathyroid Hormone on Bone*. *Endocrinology*;146(8):3589-3595.

Lemaire, V., Tobin, F. L., Greller, L. D., Cho, C. R., Suva, L. J., 2004, *Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodelling*. *J Theor Biol*; 229(3):293-309.

Li, J., Li, H., Shi, L., Fok, A. S., Ucer, C., Devlin, H., Horner, K., Silikas, N., 2007, *A mathematical model for simulating the bone remodeling process under mechanical stimulus*. *Dent Mater*; 23(9):1073-1078.

Maldonado, S., Borchers, S., Findeisen, R., Allgöwer, F., 2006, *Mathematical Modeling and Analysis of Force Induced Bone Growth*. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*;1:3154-7

Maldonado, S., Findeisen, R., Allgöwer, F., 2007, *Phenomenological Mathematical Modeling and Analysis of Force-induced Bone Growth and Adaptation*. *Em Proc. Foundations of Systems Biology in Engineerings FOSBE'07*, página 147-152, Stuttgart, Alemanha, 2007

Maldonado, S., Findeisen, R., Allgöwer, F., 2008, *Describing force-induced bone growth and adaptation by a mathematical model*. *J Musculoskelet Neuronal Interact*; 8(1):15-17

Manolagas, S. C., 2000, *Birth and Death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis*. *Endocr Rev*;21(2):115-37.

Martínez-Reina, J., García-Aznar, J. M., Domínguez, J., Doblaré, M., 2009, *A bone remodelling model including the directional activity of BMUs*. *Biomech Model Mechanobiol*; 8(2):111-27.

Mogilner, A., Wollman, R. e Marshall, W. F., 2006, *Quantitative Modeling in cell biology: What is it good for?* *Dev Cell*.;11(3):279-87.

Patrício, J. P., Oliveira, P., Faria, M. T., Pérez, M. B., Pereira, J., 2006, *Osteoporose Induzida por Corticóides*, *Arquivos de Medicina*, 20 (5-6):173 -178.

Pawlikowski, M., Klasztorny, M., Skalski, K., 2008, *Studies on constitutive equation that models bone tissue*. Acta Bioeng Biomech; 10(4):39-47.

Pérez-Sayáns, M., Somoza-Martín, J. M., Barros-Angueira, F., Rey, J. M., García-García, A., 2010, *RANK/RANKL/OPG role in distraction osteogenesis*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod; 109(5):679-86

Piotr Kowalczyk, 2010, *Simulation of orthotropic microstructure remodelling of cancellous bone*. J Biomech; 43(3):563-9

Pivonka, P., Zimak, J., Smith, D. W. , Gardiner, B. S., Dunstan, C. R. , Sims, N. A., Martin, T. J., Mundy, G. R., 2008, *Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study*. Bone; 43(2):249-63

Pivonka, P., Zimak, J., Smith, D. W. , Gardiner, B. S., Dunstan, C. R. , Sims, N. A., Martin, T. J., Mundy, G. R., 2010, *Theoretical investigation of the role of the RANK-RANKL-OPG system in bone remodelling*. J Theor Biol; 262(2):306-316.

Pivonka, P. e Komarova, S. V., 2010, *Mathematical modeling in bone biology: From intracellular signaling to tissue mechanics*. Bone; 47(2):181-9

Raisz, L. G., 1999, *Physiology and Pathophysiology of Bone Remodeling*. Clin Chem; 45(8 Pt 2):1353-8

Van't Hof, R. J., Ralston, S.H., 2001, *Nitric oxide and bone*. Immunology;103(3):255-61

Williams, P., Warwick, R., Dyson, M., Bannister, L., 1995, *Gray Anatomia*. 37ª edição, Editora Guanabara Koogan S.A.. Rio de Janeiro.

Yavropoulou, M. P., Yovos, J. G., 2008, *Osteoclastogenesis--current knowledge and future perspectives*. J Musculoskelet Neuronal Interact; 8(3):204-16.





## Anexo

### *Equações referidas por Lemaire et al. (2004)*

Quantidade de PTH

$$\frac{dP}{dt} = S_P + I_P + (k_6 \cdot P_r \bullet P - k_5 (R_T^P - P_r \bullet P) \cdot P) \cdot (B + R) - k_P \cdot P \quad (A1)$$

Quantidade do complexo de PTH e o seu receptor

$$\frac{dP_r \bullet P}{dt} = k_5 (R_T^P - P_r \bullet P) \cdot P - k_6 \cdot P_r \bullet P \quad (A2)$$

Proporção de ocupação de receptores de PTH

$$\pi_p = \frac{\bar{P} + P^0}{\bar{P} + P^s} \quad (A3)$$

$$P^s = \frac{k_6}{k_5} \quad (A4)$$

$$P^0 = \frac{S_P}{k_P} \quad (A5)$$

$$\bar{P} = \frac{I_P}{k_P} \quad (A6)$$

Quantidade de OPG

$$\frac{dO}{dt} = p_O - k_1 \cdot O \cdot L + k_2 \cdot O \bullet L - d_O \quad (A7)$$

Quantidade de complexo de OPG e RANKL

$$\frac{dO \bullet L}{dt} = k_1 \cdot O \cdot L - k_2 \cdot O \bullet L \quad (A8)$$

Quantidade de RANKL

$$\frac{dL}{dt} = p_L - k_1 \cdot O \cdot L + k_2 \cdot O \bullet L - k_3 \cdot K \cdot L + k_4 \cdot K \bullet L - d_L \quad (A9)$$

Quantidade de complexo de RANK e RANKL

$$\frac{dK \bullet L}{dt} = k_3 \cdot K \cdot L - k_4 \cdot K \bullet L \quad (A10)$$

Produção de OPG

$$p_O = \frac{K_O^P}{\pi_P} R + I_O \quad (A11)$$

Degradação de OPG

$$d_O = k_O \cdot O \quad (A12)$$

Concentração de RANKL

$$p_L - d_L = r_L \cdot \left( 1 - \frac{L + O \cdot L + K \cdot L}{K_L^P \cdot \pi_P \cdot B} \right) + I_L \quad (A13)$$

Quantidade de RANKL na fase estacionária

$$L = \frac{K_L^P \cdot \pi_P \cdot B}{1 + k_3 K / k_4 + k_1 O / k_2} \cdot \left( 1 + \frac{I_L}{r_L} \right) \quad (A14)$$

Quantidade de OPG na fase estacionária

$$O = \frac{K_O^P}{k_O \pi_P} R + \frac{I_O}{k_O} \quad (A15)$$

Proporção de ocupação de receptores de TGF- $\beta$  (adaptado)

$$\pi_C = \frac{C + C^0}{C + C^s} \quad (A16)$$

Concentração basal de osteoclastos activos no sistema

$$C^0 = f_0 \cdot C^s \quad (A17)$$

População de precursores de osteoblastos

$$\frac{dR}{dt} = D_R \cdot \pi_C - \frac{D_B}{\pi_C} \cdot R \quad (A18)$$

População de osteoblastos activos

$$\frac{dB}{dt} = \frac{D_B}{\pi_C} \cdot R - k_B \cdot B \quad (A19)$$

População de osteoclastos activos

$$\frac{dC}{dt} = D_C \cdot \pi_L - D_A \cdot \pi_C \cdot C \quad (A20)$$

Proporção da taxa de diferenciação de células precursoras de osteoblastos

$$D_B = f_0 \cdot d_B \quad (A21)$$

Proporção de ocupação de complexo RANKL-RANK

$$\pi_L = \frac{K \cdot L}{K} \quad (A22)$$

Proporção de ocupação de complexo RANKL-RANK na fase estacionária

$$\frac{K \cdot L}{K} = \frac{k_3}{k_4} \cdot \frac{K_L^P \pi_P B}{1 + \frac{k_3 K}{k_4} + \frac{k_1}{k_2 k_O} \cdot \left( \frac{K_O^P}{\pi_P} R + I_O \right)} \cdot \left( 1 + \frac{I_L}{r_L} \right) \quad (A23)$$

Tabela de valores iniciais das OBp, OBa e OCp utilizados no Lemaire et. al. (2004)

Symbol	Unit	Value	of Description
		Reference	
$R$	pM	0.0007734	Responding osteoblasts
$B$	pM	0.0007282	Active osteoblasts
$C$	pM	0.0009127	Active osteoclasts

Tabela de parâmetros adaptada à referência no Lemaire et. al. (2004)

Symbol	Unit	Value	Description
$C^s$	pM	$5 \times 10^{-3}$	Value of $C$ to get half differentiation flux
$D_A$	day <sup>-1</sup>	0.7	Rate of osteoclast apoptosis caused by TGF- $\beta$
$d_B$	day <sup>-1</sup>	0.7	Differentiation rate of responding osteoblasts
$D_C$	pM day <sup>-1</sup>	$2.1 \times 10^{-3}$	Differentiation rate of osteoclast precursors
$D_R$	pM day <sup>-1</sup>	$7 \times 10^{-4}$	Differentiation rate of osteoblast progenitors
$f_0$	No dimension	0.05	Fixed proportion
$I_L$	pM day <sup>-1</sup>	0–10 <sup>6</sup>	Rate of administration of RANKL
$I_O$	pM day <sup>-1</sup>	0–10 <sup>6</sup>	Rate of administration of OPG
$I_P$	pM day <sup>-1</sup>	0–10 <sup>6</sup>	Rate of administration of PTH
$K$	pM	10	Fixed concentration of RANK
$k_1$	pM <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	Rate of OPG-RANKL binding
$k_2$	day <sup>-1</sup>	10	Rate of OPG-RANKL unbinding
$k_3$	pM <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup>	$5.8 \times 10^{-4}$	Rate of RANK-RANKL binding
$k_4$	day <sup>-1</sup>	$1.7 \times 10^{-2}$	Rate of RANK-RANKL unbinding
$k_5$	pM <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup>	0.02	Rate of PTH binding with its receptor
$k_6$	day <sup>-1</sup>	3	Rate of PTH unbinding
$k_B$	day <sup>-1</sup>	0.189	Rate of elimination of active osteoblasts
$K_L^P$	pmol/pmol cells	$3 \times 10^6$	Maximum number of RANKL attached on each cell surface
$k_O$	day <sup>-1</sup>	0.35	Rate of elimination of OPG
$K_O^P$	pmol day <sup>-1</sup> /pmol cells	$2 \times 10^5$	Minimal rate of production of OPG per cell
$k_P$	day <sup>-1</sup>	86	Rate of elimination of PTH
$r_L$	pM day <sup>-1</sup>	10 <sup>3</sup>	Rate of RANKL production and elimination
$S_P$	pM day <sup>-1</sup>	250	Rate of synthesis of systemic PTH

***Equações referidas por Maldonado et al. (2006)***

Estimulante biomecânico

$$F_{sti} = \frac{F_s x_y}{(1 + \exp(-(k_{Fs} F_s + k_y x_y)))} \quad (A24)$$

Magnitude da força

$$F_s = \frac{F_a}{A_B} \quad (A25)$$

Quantidade de NO produzido ao longo do tempo

$$\frac{dx_{no}}{dt} = k_{yno} F_{sti} - k_{nod} x_{no} + X_{noe} \quad (A26)$$

Quantidade de PGE<sub>2</sub> produzido ao longo do tempo

$$\frac{dx_{pge}}{dt} = k_{ypge} F_{sti} + k_{nopge} x_{no} - k_{pged} x_{pge} + X_{pgex} \quad (A27)$$

Quantidade de OPG produzido ao longo do tempo

$$\frac{dx_{opg}}{dt} = K_o^p \pi_c x_r + I_o + k_{nopg} x_{no} - k_{opgd} x_{opg} \quad (A28)$$



Quantidade de RANKL produzida ao longo do tempo

$$\frac{dx_{kl}}{dt} = r_l + I_l - k_{nokl}x_{no} - r_l \frac{1 + \frac{k_1}{k_2}x_{opg} + \frac{k_3}{k_4}K}{K_l^p \pi_p x_b} x_{kl} \quad (A29)$$

População de células precursoras de osteoblastos

$$\frac{dx_r}{dt} = D_R \pi_c - \frac{D_B}{\pi_c} x_r + k_{pger} x_{pge} \quad (A30)$$

População de osteoblastos activos

$$\frac{dx_b}{dt} = \frac{D_B}{\pi_c} x_r - k_B x_b \quad (A31)$$

População de osteoclastos activos

$$\frac{dx_c}{dt} = D_c \pi_L - D_A \pi_c x_c \quad (A32)$$

Tabela de parâmetros referidos no Maldonado et. al. (2006)

Symbol	Reference Value	Description
$k_{rB}$	$1.000e0 \text{ day}^{-1}$	Radius degradation rate
$k_{res}$	$10.000e-3 \text{ mm/day}$	Rate of bone resorption
$k_{for}$	$1.000e-3 \text{ mm/day}$	Rate of bone formation
$F_{ass}$	$1.000e0 \text{ N}$	Force reference value
$X_{rss}$	$7.734e-4 \text{ pM}$	ROBs reference value
$X_{bss}$	$7.282e-4 \text{ pM}$	OBs reference value
$X_{css}$	$9.127e-4 \text{ pM}$	OCs reference value
$X_{yss}$	$7.300e-3 \text{ pM}$	OCys reference value
$k_{byp}$	$1.000e-1 \text{ day}^{-1}$	OCys production rate
$k_{yd}$	$1.000e0 \text{ day}^{-1}$	OCys degradation rate
$k_{yno}$	$2.000e4 \text{ mm}^2 \text{ day/dyn}$	NO released rate
$k_{nod}$	$1.000e3 \text{ day}^{-1}$	NO elimination rate
$k_y$	$1.000e0 \text{ pM}^{-1}$	OCys influence rate
$k_{Fs}$	$1.000e0 \text{ mm}^2/\text{N}$	Stress influence rate
$X_{noe}$	$0.000e0 \text{ pM day}^{-1}$	NO external administration rate
$k_{ypge}$	$1.000e2 \text{ mm}^2 \text{ day/dyn}$	PGE <sub>2</sub> released rate
$k_{pge}$	$1.000e2 \text{ day}^{-1}$	PGE <sub>2</sub> elimination rate
$k_{nopge}$	$1.000e0 \text{ day}^{-1}$	PGE <sub>2</sub> rate increased by NO
$X_{pger}$	$0.000e0 \text{ pM day}^{-1}$	PGE <sub>2</sub> ext administration rate
$k_{nopg}$	$1.000e1 \text{ day}^{-1}$	Rate of OPG increased by NO
$k_{opgd}$	$3.500e-1 \text{ day}^{-1}$	Rate of elimination of OPG
$k_{nokl}$	$1.000e2 \text{ day}^{-1}$	Rate of RANKL decreased by NO
$k_{pger}$	$1.000e-4 \text{ day}^{-1}$	Rate of ROB increased by PGE <sub>2</sub>

### ***Equações referidas por Pivonka et al. (2010)***

População de precursores de osteoblastos

$$\frac{dOB_p}{dt} = DOB_u \times OB_u \times \pi_{act;OB_u}^{TGF-\beta} - DOB_p \times OB_p \times \pi_{rep;OB_p}^{TGF-\beta} \quad (A33)$$

População de osteoblastos activos

$$\frac{dOB_a}{dt} = DOB_p \times OB_p \times \pi_{rep;OB_p}^{TGF-\beta} - AOB_a \times OB_a \quad (A34)$$

População de osteoclastos activos

$$\frac{dOC_a}{dt} = DOC_p \times OC_p \times \pi_{act;OC_p}^{RANKL} - AOC_a \times OC_a \times \pi_{act;OC_p}^{TGF-\beta} \quad (A35)$$

Volume ósseo

$$\frac{dBV}{dt} = -k_{res} \cdot OC_a + k_{form} \cdot OB_a \quad (A36)$$

Activação de osteoclastos por RANKL

$$\pi_{act,OC_p}^{RANKL} = \frac{RANKL}{K_{D8,RANKL} + RANKL} \quad (A37)$$

Quantidade de RANKL livre

$$RANKL = \frac{RANKL_{eff}}{1 + K_{A1}^{RANKL} OPG + K_{A2}^{RANKL} RANK} \left( \frac{\beta_{RANKL} + P_{RANKL,d}(t)}{\beta_{RANKL} + \tilde{D}_{RANKL} RANKL_{eff}} \right) \quad (A38)$$

Quantidade de RANKL efectiva

$$\text{RANKL}_{\text{eff}} = \pi_{\text{act,OB}}^{\text{PTH}} \cdot (R_1^{\text{RANKL}} \cdot \text{OB}_p + R_2^{\text{RANKL}} \cdot \text{OB}_a) \quad (\text{A39})$$

Quantidade de OPG

$$\text{OPG} = \frac{(\beta_{1,\text{OPG}} \cdot \text{OB}_p + \beta_{2,\text{OPG}} \cdot \text{OB}_a) \cdot \pi_{\text{rep,OB}}^{\text{PTH}} + P_{\text{OPG},d}(t)}{((\beta_{1,\text{OPG}} \cdot \text{OB}_p + \beta_{2,\text{OPG}} \cdot \text{OB}_a) / \text{OPG}_{\text{max}}) \cdot \pi_{\text{rep,OB}}^{\text{PTH}} + \tilde{D}_{\text{OPG}}} \quad (\text{A40})$$

Quantidade de PTH

$$\text{PTH} = \frac{\beta_{\text{PTH}} + P_{\text{PTH},d}(t)}{\tilde{D}_{\text{PTH}}} \quad (\text{A41})$$

Activação de osteoblastos por PTH

$$\pi_{\text{act,OB}_p/\text{OB}_a}^{\text{PTH}} = \frac{\text{PTH}}{K_{D_i,\text{PTH}} + \text{PTH}} \quad (\text{A42})$$

Repressão de osteoblastos por PTH

$$\pi_{\text{rep,OB}_p/\text{OB}_a}^{\text{PTH}} = \frac{1}{1 + \text{PTH}/K_{D_i,\text{PTH}}} \quad (\text{A43})$$

Quantidade de TGF- $\beta$

$$TGF - \beta = \frac{\alpha \cdot k_{res} OC_a + S_{TGF-\beta}}{\tilde{D}_{TGF-\beta}} \quad (A44)$$

Factor de activação por TGF- $\beta$  para progenitores de osteoblastos e osteoclastos activos

$$\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} = \pi_{act,OC_a}^{TGF-\beta} = \frac{TGF-\beta}{K_{D_i,TGF-\beta} + TGF-\beta} \quad (A45)$$

Factor de repressão por TGF- $\beta$  para precursores de osteoblastos

$$\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} = \frac{1}{1 + (TGF-\beta/K_{D_2,TGF-\beta})} \quad (A46)$$

Tabela de parâmetros referidos no Pivonka et. al. (2010)

Symbol	Value	Unit	Description
$D_{OB_u}$	$7.000 \times 10^{-2}$	$\text{day}^{-1}$	Differentiation rate of uncommitted OB
$D_{OB_p}$	$2.674 \times 10^{-1}$	$\text{day}^{-1}$	Differentiation rate of OB precursor cells
$A_{OB_a}$	$1.890 \times 10^{-1}$	$\text{day}^{-1}$	Rate of elimination of active OB
$D_{OC_p}$	$2.100 \times 10^{-1}$	$\text{day}^{-1}$	Differentiation rate of OC precursor cells
$A_{OC_p}$	$7.000 \times 10^{-1}$	$\text{day}^{-1}$	Rate of OC apoptosis regulated by TGF- $\beta$
$K_{D_1, \text{TGF-}\beta}, K_{D_3, \text{TGF-}\beta}$	$4.546 \times 10^{-3}$	pM	Activation coefficient related to TGF- $\beta$ binding on $OB_u$ and $OC_a$
$K_{D_2, \text{TGF-}\beta}$	$1.416 \times 10^{-3}$	pM	Repression coefficient related to TGF- $\beta$ binding on $OB_p$
$K_{D_4, \text{PTH}}, K_{D_5, \text{PTH}}$	$1.500 \times 10^2$	pM	Activation coefficient related to PTH binding on $OB_p$ and $OB_a$ regulating RANKL
$K_{D_6, \text{PTH}}, K_{D_7, \text{PTH}}$	$2.226 \times 10^{-1}$	pM	Activation coefficient related to PTH binding on $OB_p$ and $OB_a$ regulating OPG
$K_{D_8, \text{RANKL}}$	$4.457 \times 10^0$	pM	Activation coefficient related to RANKL binding to RANK
RANK	$1.000 \times 10^1$	pM	Fixed concentration of RANK (OCp is constant)
$R^{\text{RANKL}}_1, R^{\text{RANKL}}_2$	$2.703 \times 10^6$	[-]	Max # of RANKL on each cell surface (1: $OB_p$ ; 2: $OB_a$ )
$\beta_{\text{RANKL}}$	$1.684 \times 10^2$	$\text{pM day}^{-1}$	Production rate of RANKL
$\bar{D}_{\text{RANKL}}$	$1.013 \times 10^1$	$\text{day}^{-1}$	Rate of degradation of RANKL
$\bar{D}_{\text{OPG}}$	$3.500 \times 10^{-1}$	$\text{day}^{-1}$	Rate of degradation of OPG
$\beta_{1, \text{OPG}}, \beta_{2, \text{OPG}}$	$1.625 \times 10^8$	$\text{pM day}^{-1}$	Production rate of OPG (1: $OB_p$ ; 2: $OB_a$ )
$\text{OPG}_{\text{max}}$	$2.000 \times 10^8$	pM	Maximum possible OPG concentration
$K_{A_1, \text{RANKL}}$	$1.000 \times 10^{-3}$	$\text{pM}^{-1}$	Association binding constant RANKL-OPG
$K_{A_2, \text{RANKL}}$	$3.412 \times 10^{-2}$	$\text{pM}^{-1}$	Association binding constant RANKL-RANK
$\bar{D}_{\text{PTH}}$	$8.600 \times 10^1$	$\text{day}^{-1}$	Rate of degradation of PTH
$\beta_{\text{PTH}}$	$2.500 \times 10^2$	$\text{pM day}^{-1}$	Rate of systemic PTH production
$\bar{D}_{\text{TGF-}\beta}$	$1.000 \times 10^0$	$\text{day}^{-1}$	Rate of degradation of TGF- $\beta$
$\alpha$	$1.000 \times 10^0$	%	TGF- $\beta$ content stored in bone matrix
$k_{\text{res}}$	$2.000 \times 10^2$	$\% \text{ pM}^{-1} \text{ day}^{-1}$	Relative rate of bone resorption
$k_{\text{form}}$	$2.890 \times 10^0$	$\% \text{ pM}^{-1} \text{ day}^{-1}$	Relative rate of bone formation

## ***Programação do modelo implementado***

Parâmetro

Needs["PlotLegends`"]

OBu= $1 \cdot 10^{-2}$ ;  
OCp= $1 \cdot 10^{-2}$ ;  
DOBu= $7 \cdot 10^{-2}$ ;  
DOBp= $2.674 \cdot 10^{-1}$  ;  
AOBa= $1.89 \cdot 10^{-1}$ ;  
DOCp= $2.1 \cdot 10^{-1}$ ;  
AOCa= $7 \cdot 10^{-1}$ ;  
KKD1TGF $\beta$ = $4.545 \cdot 10^{-3}$ ;  
KKD2TGF $\beta$ = $1.416 \cdot 10^{-3}$ ;  
KKD3TGF $\beta$ = $4.545 \cdot 10^{-3}$ ;  
KKD4PTH= $1.5 \cdot 10^2$ ;  
KKD5PTH= $1.5 \cdot 10^2$ ;  
KKD6PTH= $2.226 \cdot 10^{-1}$ ;  
KKD7PTH= $2.226 \cdot 10^{-1}$ ;  
KKD8RANKL= $4.457 \cdot 10^0$ ;  
RANK= $1 \cdot 10^1$ ;  
RRANKL1= $3 \cdot 10^6$  ;  
RRANKL2= $3 \cdot 10^6$  ;  
 $\beta$ RANKL= $1.684 \cdot 10^2$ ;  
DDRANKL= $1.013 \cdot 10^1$ ;  
DDOPG= $3.5 \cdot 10^{-1}$ ;  
 $\beta$ 1OPG= $1.625 \cdot 10^8$ ;  
 $\beta$ 2OPG= $1.625 \cdot 10^8$ ;  
OPGmax= $2 \cdot 10^8$ ;  
KKA1RANKL= $1 \cdot 10^{-3}$ ;  
KKA2RANKL= $3.412 \cdot 10^{-2}$ ;  
DDPTH= $8.6 \cdot 10^1$ ;  
 $\beta$ PTH= $2.5 \cdot 10^2$ ;  
DDTGF $\beta$ = $1 \cdot 10^0$ ;  
 $\alpha$ = $1 \cdot 10^0$ ;  
kkres= $1 \cdot 10^2$ ;  
kkform= $1.4443 \cdot 10^2$ ;

(\*Lemaire 2004\*)

cs= $5 \cdot 10^{-3}$ ;  
da=0.7;  
ddB=0.7;  
dc= $2.1 \cdot 10^{-3}$ ;  
dr= $7 \cdot 10^{-4}$ ;  
f0=0.05;

```

il=0;
io=0;
ip=0;
k=10;
k1=0.01;
k2=10;
k3=5.8*10-4;
k4=1.7*10-2;
k5=0.02;
k6=3;
kB=0.189;
kpl=3*106;
kO=0.35;
kpo=2*105;
kp=86;
rL=1000;
sp=250;

```

(\*Parâmetros utilizadas para representar doenças no modelo do Maldonado. Valores baseados no artigo do Lemaire \*)

```

akpo=158;
asp=3765;
adr=1.7*10-4;

```

(\*Maldonado\*)

```

kr=1;
kres=10*10-3;
kfor=1*10-3;

```

(\* utilizados no modelo de Maldonado \*)

```

XXpob=7.734*10-4;
XXob=7.2*10-4;
XXoc=9.1*10-4;

```

(\* utilizados no modelo de Maldonado \*)

(\* utilizados no presente modelo \*)

```

Xpob=6.196*10-4;
Xob=5.584*10-4;
Xoc=8.070*10-4;
Xoy=7.3*10-3;
kbyp=1*10-1;
kyd=1;
kyno=2*104;
knod=1*103;
ky=1;
kFs=1;

```

$X_{noe}=0;$   
 $k_{ypg}=1*10^2;$   
 $k_{pgd}=1*10^2;$   
 $X_{pgex}=0;$   
 $k_{nopg}=1*10;$   
 $k_{nop}=1*10;$   
 $k_{opgd}=3.5*10^{-1};$   
 $k_{nokl}=5*10^1;$   
 $k_{pger}=1*10^{-4};$

$fcs=0.05;$

$totaltime=4000;$

## Funções

$pRANKLactOCp[RANKL\_ , RANKup\_ ] := (KKA2RANKL * RANKup * RANK * RANKL) / (KKD8RANKL + KKA2RANKL * RANKup * RANK * RANKL)$  (\* Ativação por RANKL na OCp \*)

$RANKL[OPG\_ , RANKLeff\_ , PRANKLt\_ , xno\_ , RANKup\_ , RANKLup\_ ] := RANKLup * (\beta RANKL + PRANKLt) / ((1 + KKA1RANKL * OPG + KKA2RANKL * RANKup / RANKup * RANK) * (\beta RANKL / RANKLeff + DDRANKL) + knokl * xno)$  (\* Quantidade de RANKL livres \*)

(\* Nas equações RANKLeff e OPG utilizaram-se o parâmetro pPTHactOBa para substituir pPTHactOB, que está no artigo. Segundo os autores, assumiram-se que o pPTHactOBa e pPTHactOBp são iguais por isso abreviaram para pPTHactOB \*)

$RANKLeff[OBp\_ , OBa\_ , pPTHactOBa\_ ] := pPTHactOBa * (RRANKL1 * OBp + 0 * RRANKL2 * OBa)$  (\* Máxima concetração de RANKL \*)

$OPG[OBp\_ , OBa\_ , pPTHrepOBa\_ , POPGt\_ , xno\_ , OPGcut\_ ] := OPGcut * (knop * xno + (0 * \beta 1 OPG * OBp + \beta 2 OPG * OBa) * pPTHrepOBa + POPGt) / (((0 * \beta 1 OPG * OBp + \beta 2 OPG * OBa) / OPGmax) * pPTHrepOBa + DDOPG)$  (\* Quantidade de OPG \*)

$PTH[PPTHt\_ , APTH\_ ] := (APTH * \beta PTH + PPTHt) / DDPTH$  (\* Quantidade de PTH \*)

$pPTHactOBp[PTH\_ ] := PTH / (KKD4PTH + PTH)$  (\* Ativação por PTH na OBp \*)

$pPTHactOBa[PTH\_ ] := PTH / (KKD5PTH + PTH)$  (\* Ativação por PTH na OBa \*)



$pPTHrepOBp[PTH\_]:=1/(1+PTH/KKD6PTH)$  (\* Repressão por PTH na OBp \*)  
 $pPTHrepOBa[PTH\_]:=1/(1+PTH/KKD7PTH)$  (\* Repressão por PTH na OBa \*)  
 $TGF\beta[OCa\_ATGF\beta\_]:=ATGF\beta*\alpha*OCa$  (\* Quantidade de  $TGF\beta$  \*)  
 $pTGF\beta actOBu[TGF\beta\_]:=TGF\beta/(KKD1TGF\beta+TGF\beta)$  (\* Activação por  $TGF\beta$  na OBU \*)  
 $pTGF\beta actOCa[TGF\beta\_]:=TGF\beta/(KKD3TGF\beta+TGF\beta)$  (\* Activação por  $TGF\beta$  na OCa \*)  
 $pTGF\beta repOBp[TGF\beta\_]:=1/(1+(TGF\beta/KKD2TGF\beta))$  (\* Repressão por  $TGF\beta$  na OBp \*)  
 (\*Maldonado\*)  
 $pc[c\_]=(c+(fcs*cs))/(c+cs)$  (\* Proporção de ocupação de receptores de  $TGF\beta$  \*)  
 $pPs:=(ip/kp+sp/kp)/(ip/kp+k6/k5)$  (\* Proporção de ocupação de receptores de PTH \*)  
 $apPs:=(ip/kp+asp/kp)/(ip/kp+k6/k5)$  (\* Proporção de ocupação de receptores de PTH para o caso da deficiência da calcitriol (vitamina D) \*)  
 $pL[l\_]:=k3/k4*1$  (\* Proporção de ocupação do complexo RANKL-RANK \*)  
 $AB[rB\_]=(rB^2)*\pi$  (\* Área do osso \*)  
 $Fbs[OY\_Fs\_]=(Fs*OY)/(1+e^{-(kFs*Fs+ky*OY)})$  (\* estimulação biomecânica \*)  
 $Fs[AB\_Fass\_]:=Fass/AB$  (\* Força externa aplicada \*)  
 (\* ===== Controlo de doenças ===== \*)  
 $RANKLup[t\_]:=If[t>200\&\&t<500,1,1]$  (\* Factor para alterar a quantidade de RANKL \*)  
 $RANKup[t\_]:=If[t>200\&\&t<500,1,1]$  (\* Factor para alterar a quantidade de RANK \*)  
 $OPGcut[t\_]:=If[t>0\&\&t<100,1,1]$  (\* Factor para alterar a quantidade de OPG \*)  
 $PPTHt[t\_]:=If[t>200\&\&t<500,0,0]$  (\* Administração externa de PTH \*)  
 $PRANKLt[t\_]:=If[t>0\&\&t<200,0,0]$  (\* Administração externa de RANKL \*)

POPGt[t\_]:=If[t>500&& t<2300,0,If[t≥2300&& t<3000,0,0]] (\* Administração externa de OPG \*)

APTH[t\_]:=If[t>200&& t<3000,1,1] (\* Factor para alterar a quantidade de PTH. Condição normal=1 \*)

DAPTH[t\_]:=If[t>0&& t<500,1,1] (\* Factor para alterar a quantidade de PTH. Para a simulação caso de doença. Condição normal=1 \*)

AOBu[t\_]:=If[t>0&& t<600,1,If[t≥2300&& t<3000,1,1]] (\* Factor para alterar a taxa de diferenciação de OBp. Condição normal=1 \*)

DAOBu[t\_]:=If[t>0&& t<500,1,If[t≥2300&& t<3000,1,1]]

ATGFβ[t\_]:=If[t>200&& t<3000,1,1] (\* Factor para alterar a quantidade de TGFβ armazenada no osso. Condição normal=1 \*)

DATGFβ[t\_]:=If[t>0&& t<500,1,1]

AAOBa[t\_]:=If[t>500&& t<2300,1,If[t≥2300&& t<3000,1,1]] (\* Factor para alterar a taxa de apoptose de OBa. Condição normal=1 \*)

Fass[t\_]:=If[t≥250&& t<350,1,If[t≥350&& t<450,1,If[t≥450&& t<500,1,1]]] (\* Estado normal, sem aplicação de forças externas\*)

aFass[t\_]:=If[t≥250&& t<350,5,If[t≥350&& t<450,10,If[t≥450&& t<500,-0.6,1]]] (\* Para a simular o estímulo mecânico no modelo \*)

bFass[t\_]:=If[t≥50&& t<150,5,If[t≥150&& t<250,10,If[t≥250&& t<500,-0.6,1]]] (\* Para a comparação simulações entre modelos \*)

(\* \*\*\*\*\* Descrição de Doenças \*\*\*\*\* \*)

Terapia para GIO =>> Doença => AOBu=0.8; Recuperação => AAOBa= 0.78;  
Manutenção => AAOBa=0.804

Terapia para senescência =>> Doença => ATGFβ=0.8; Recuperação => AOBu=1.26;  
Manutenção => AOBu=1.223

Terapia para a deficiência de calcitriol =>>Doença => APTH= 4; Recuperação =>  
POPGt= 2300; AOBu= 1.08; Manutenção => POPGt= 2200; AOBu= 1.06

\*\*\*Intervalo de tempo para a simulação de doença e tratamento terapêutico\*\*\*  
Doenças => 200 a 3000

Recuperação => 500 a 2300  
 Manutenção => 2300 a 3000

\*\*\*Intervalo de tempo para a simulação das doenças\*\*\*  
 Doenças => 200 a 500  
 \*)

(\* ===== Controlo de doenças ===== \*)

Equações diferenciais  
 (\*Modelo Implementado\*)

```
solPS=NDSolve[ {
  (*Equação diferencial que simula a população de células precursoras de
  Osteoblastos*)
  OBp'[t]==AOBu[t]*DOBu*OBu*pTGFβactOBu[TGFβ[OCa[t],ATGFβ[t]]]-
  DOBp*OBp[t]*pTGFβrepOBp[TGFβ[OCa[t],ATGFβ[t]]]+kpger*xpge[t],
  (*Equação diferencial que simula a população de Osteoblastos activos*)
  OBa'[t]==DOBp*OBp[t]*pTGFβrepOBp[TGFβ[OCa[t],ATGFβ[t]]]-
  AAOBa[t]*AOBa*OBa[t],
  (*Equação diferencial que simula a população de Osteoclastos activos*)

  OCa[t]==DOCp*OCp*pRANKLactOCp[RANKL[OPG[OBp[t],OBa[t],pPTHrepOBa[P
  TH[PPTHt[t],APTH[t]]],POPGt[t],xno[t],OPGcut[t]],RANKLeff[OBp[t],OBa[t],pPTHa
  ctOBa[
  PTH[PPTHt[t],APTH[t]]],PRANKLt[t],xno[t],RANKup[t],RANKLup[t]],RANKup[t]]
  -AOCa*OCa[t]*pTGFβactOCa[TGFβ[OCa[t],ATGFβ[t]]],
  (*Equação diferencial que simula o volume ósseo*)
  BV'[t]==-kkres*OCa[t]+kkform*OBa[t],
  (*Equação diferencial que simula a população de Osteócitos*)
  OY'[t]==kbyp*(OBa[t]-Xob)-kyd*(OY[t]-Xoy),
  (*Equação diferencial que simula o raio do osso*)
  rB'[t]==(-kres/Xoc)*OCa[t]+(kfor/Xob)*OBa[t]+(1/Xoy)*OY[t]-kr*rB[t],
  (*Equação diferencial que simula a quantidade de NO*)
  xno'[t]==kyno*Fbs[OY[t],Fs[AB[rB[t]],Fass[t]]]-knod*xno[t]+Xnoe,
  (*Equação diferencial que simula a quantidade de PGE2*)
  xpge'[t]==kypg*Fbs[OY[t],Fs[AB[rB[t]],Fass[t]]]+knopg*xno[t]-
  kpgd*xpge[t]+Xpgex,
  (*Condições iniciais para as equações diferenciais*)
  OBp[0]==6.196*10-4,OBa[0]==5.584*10-4,OCa[0]==8.070*10-4,
  BV[0]==100,OY[0]==7.3*10-3, rB[0]==9.91*10-1, xno[0]==2.75*10-2, xpge[0]==5*10-2,
  {OBp,OBa,OCa,BV,OY,rB,xno,xpge},{t,0,totaltime}, MaxSteps->∞]
  {{OBp->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],OBa->InterpolatingFunction[{{0.,4000.
  .}},<],OCa->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],BV->InterpolatingFunction[{{0.,
  4000.}},<],OY->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],rB->InterpolatingFunction[{{
  0.,4000.}},<],xno->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],xpge->InterpolatingFuncti
  on[{{0.,4000.}},<]}}
```

(\*Modelo do Maldonado\*)

```
solMal=NDSolve[ {
  (*Equação diferencial que simula a população de células precursoras de
  Osteoblastos*)
  r'[t]==dr*pc[c[t]]-((f0*ddB)/pc[c[t]])*r[t]+kpger*xpge[t],
  (*Equação diferencial que simula a população de células de Osteoblastos activos*)
  b'[t]==((f0*ddB)/pc[c[t]])*r[t]-kB*b[t],
  (*Equação diferencial que simula a população de células de Osteoclastos activos*)
  c'[t]==dc*pL[l[t]]-da*pc[c[t]]*c[t],
  (*Equação diferencial que simula a quantidade de RANKL*)
  l'[t]==rL+il-knokl*xno[t]-rL*((1+k1/k2*o[t]+k3/k4*k)/(kpl*pPs*b[t]))*l[t],
  (*Equação diferencial que simula a quantidade de OPG*)
  o'[t]==kpo/pPs*r[t]+io+knop*xno[t]-kopgd*o[t],
  (*Equação diferencial que simula o raio do osso*)
  mrB'[t]==(-kres/XXoc)*c[t]+(kfor/XXob)*b[t]+(1/Xoy)*y[t]-kr*mrB[t],
  (*Equação diferencial que simula a população de Osteócitos*)
  y'[t]==kbyp*(b[t]-XXob)-kyd*(y[t]-Xoy),
  (*Equação diferencial que simula a quantidade de NO*)
  xno'[t]==kyno*Fbs[y[t],Fs[AB[mrB[t]],Fass[t]]]-knod*xno[t]+Xnoe,
  (*Equação diferencial que simula a quantidade de PGE2*)
  xpge'[t]==kypg*Fbs[y[t],Fs[AB[mrB[t]],Fass[t]]]+knopg*xno[t]-
  kpgd*xpge[t]+Xpgex,
  (*Condições iniciais para as equações diferenciais*)
  r[0]==7.734*10^-4, b[0]==7.2*10^-4, c[0]==9.1*10^-4, l[0]==1.752, o[0]==2.286*10^-4,
  mrB[0]==9.91*10^-1, y[0]==7.3*10^-3, xno[0]==2.75*10^-2, xpge[0]==5*10^-2,
  {r,b,c,l,o, mrB,y,xno,xpge},{t,0,totaltime}]
  {{r→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],b→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],
  c→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],l→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],o
  →InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],mrB→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],
  y→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],xno→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<
  >],xpge→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>]}}
```

Gráficos de Osteoclastos e de Osteoblastos

```
(* Gráfico que representa as populações normalizadas de células precursoras de
Osteoblastos, Osteoblastos activos e Osteoclastos activos*)
Plot[Evaluate[{OBp[t]/OBp[4000],OBa[t]/OBa[4000],OCa[t]/OCa[4000]}/.solPS[[1]]],
{t,0,4000},
AxesLabel→{"dias",None},PlotStyle→{Blue,Green,
Red},PlotLegend→{"OBp","OBa","OCA"},LegendPosition→{0,0},PlotRange→All]
```

```
(* Gráfico que representa as populações de células precursoras de Osteoblastos,
Osteoblastos activos e Osteoclastos activos*)
Plot[Evaluate[{OBp[t],OBa[t],OCA[t]}/.solPS[[1]]],{t,0,1000},AxesLabel→{"dias",
"pM"},PlotStyle→{Blue,Green,
Red},PlotLegend→{"OBp","OBa","OCA"},LegendPosition→{0,0},PlotRange→{0.0005,
0.00085}]
```

## Gráficos

(\* Gráfico que representa a comparação do raio do osso entre Maldonado e o modelo implementado \*)

```
Plot[{Evaluate[{rB[t]}/.solPS[[1]]],Evaluate[{mrB[t]}/.solMal[[1]]]}, {t,100,700},AxesLabel-> {"dias", "mm"},PlotStyle-> {Blue, Green},PlotLegend->{"rB Modelo","rB Maldonado"},LegendPosition->{0,0},PlotRange->{0.9905,0.9918}]
```

(\* Gráfico que representa as populações de Osteoblastos activos e de Osteoclastos activos simulados pelo modelo de Maldonado e pelo presente Modelo\*)

```
Plot[{Evaluate[{OBa[t]}/.solPS],Evaluate[{OCa[t]}/.solPS],Evaluate[{b[t]}/.solMal],Evaluate[{c[t]}/.solMal]}, {t,100,700},AxesLabel-> {"dias", "pM"},PlotStyle-> {Blue, Green, Red, Orange},PlotLegend->{"OBa Modelo","OCa Modelo","OBa Maldonado","OCa Maldonado"},PlotRange->{0.00055, 0.00095}]
```

(\* Gráfico que representa as populações Osteócitos \*)

```
Plot[Evaluate[{OY[t]}/.solPS[[1]]], {t,100,700},AxesLabel-> {"dias", "pM"},PlotStyle-> {Blue},PlotLegend->{"OY"},LegendPosition->{0,0},PlotRange->All]
```

(\* Gráfico que representa o raio do osso \*)

```
Plot[Evaluate[{rB[t]}/.solPS[[1]]], {t,0,350},AxesLabel-> {"dias", "mm"},PlotStyle-> {Purple},PlotLegend->{"rB"},LegendPosition->{0,0},PlotRange->All]
```

(\* Gráfico que representa o volume do osso \*)

```
Plot[Evaluate[BV[t]/.solPS[[1]]], {t,0,totaltime},AxesLabel-> {"dias", "percentagem"},PlotStyle-> {Blue},PlotLegend->{"BV"},LegendPosition->{0,0.0},PlotRange->{94,105}]
```

(\* Gráfico que representa a razão entre o OCa e o OBa \*)

```
Plot[Evaluate[{OCa[t]/OBa[t]}/.solPS[[1]]], {t,0,totaltime},AxesLabel-> {"dias", None},PlotStyle-> {Green},PlotLegend->{"OCa/OBa"},LegendPosition->{0,0},PlotRange->{0,3}]
```

(\* Gráfico que representa a dinâmica da remodelação óssea OCa e o OBa \*)

```
Plot[Evaluate[{(OCa[t]+OBa[t])/(OCa[4000]+OBa[4000])}/.solPS[[1]]], {t,0,totaltime},AxesLabel-> {dias, None},PlotStyle-> {Darker[Gray]},PlotLegend->{"OCa+OBa"},LegendPosition->{0,0},PlotRange->{0,2}]
```

## Simulações de doenças Maldonado

(\* Simulação da deficiência da vitamina D através do modelo de Maldonado \*)

```
solMalPTH=NDSolve[{  
  r'[t]==dr*pc[c[t]]-((f0*ddb)/pc[c[t]])*r[t]+kpger*xpge[t],  
  b'[t]==((f0*ddb)/pc[c[t]])*r[t]-kB*b[t],  
  c'[t]==dc*pL[l[t]]-da*pc[c[t]]*c[t],  
  l'[t]==rL+il-knokl*xno[t]-rL*(1+k1/k2*o[t]+k3/k4*k)/(kpl*apPs*b[t])*l[t],  
  o'[t]==kpo/apPs*r[t]+io+knopg*xno[t]-kopgd*o[t],  
  mrB'[t]==(-kres/XXoc)*c[t]+(kfor/XXob)*b[t]+(1/Xoy)*y[t]-kr*mrB[t],
```

```

y'[t]==kby* (b[t]-XXob)-kyd*(y[t]-Xoy),
xno'[t]==kyno*Fbs[y[t],Fs[AB[mrB[t]],Fass[t]]]-knod*xno[t]+Xnoe,
xpge'[t]==kypg*Fbs[y[t],Fs[AB[mrB[t]],Fass[t]]]+knopg*xno[t]-
kpgd*xpge[t]+Xpgex,
r[0]==7.734*10^-4, b[0]==7.2*10^-4, c[0]==9.1*10^-4, l[0]==1.752, o[0]==2.286*10^-4,
mrB[0]==9.91*10^-1, y[0]==7.3*10^-3, xno[0]==2.75*10^-2, xpge[0]==5*10^-2},
{r,b,c,l,o, mrB,y,xno,xpge},{t,0,totaltime}}
{r→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],b→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],
c→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],l→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],o
→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],mrB→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],
y→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],xno→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<
>],xpge→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>]]}

```

(\* Simulação da senescência através do modelo de Maldonado \*)

```

solMalTGF=NDSolve[{
r'[t]==dr*0.35*pc[c[t]]-((f0*ddB)/(0.35*pc[c[t]]))*r[t]+kpgger*xpge[t],
b'[t]==((f0*ddB)/(0.35*pc[c[t]]))*r[t]-kB*b[t],
c'[t]==dc*pL[l[t]]-da*pc[c[t]]*c[t],
l'[t]==rL+il-knokl*xno[t]-rL*(1+k1/k2*o[t]+k3/k4*k)/(kpl*pPs*b[t])*l[t],
o'[t]==kpo/pPs*r[t]+io+knopg*xno[t]-kopgd*o[t],
mrB'[t]==(-kres/XXoc)*c[t]+(kfor/XXob)*b[t]+(1/Xoy)*y[t]-kr*mrB[t],
y'[t]==kby* (b[t]-XXob)-kyd*(y[t]-Xoy),
xno'[t]==kyno*Fbs[y[t],Fs[AB[mrB[t]],Fass[t]]]-knod*xno[t]+Xnoe,
xpge'[t]==kypg*Fbs[y[t],Fs[AB[mrB[t]],Fass[t]]]+knopg*xno[t]-
kpgd*xpge[t]+Xpgex,
r[0]==7.734*10^-4, b[0]==7.2*10^-4, c[0]==9.1*10^-4, l[0]==1.752, o[0]==2.286*10^-4,
mrB[0]==9.91*10^-1, y[0]==7.3*10^-3, xno[0]==2.75*10^-2, xpge[0]==5*10^-2},
{r,b,c,l,o, mrB,y,xno,xpge},{t,0,totaltime}}
{r→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],b→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],
c→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],l→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],o
→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],mrB→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],
y→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>],xno→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<
>],xpge→InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<>]]}

```

(\* Simulação da osteoporose induzida por glucocorticóide (GIO) através do modelo de Maldonado \*)

```

solMalROB=NDSolve[{
r'[t]==adr*pc[c[t]]-((f0*ddB)/pc[c[t]])*r[t]+kpgger*xpge[t],
b'[t]==((f0*ddB)/pc[c[t]])*r[t]-kB*b[t],
c'[t]==dc*pL[l[t]]-da*pc[c[t]]*c[t],
l'[t]==rL+il-knokl*xno[t]-rL*(1+k1/k2*o[t]+k3/k4*k)/(kpl*pPs*b[t])*l[t],
o'[t]==kpo/pPs*r[t]+io+knopg*xno[t]-kopgd*o[t],
mrB'[t]==(-kres/XXoc)*c[t]+(kfor/XXob)*b[t]+(1/Xoy)*y[t]-kr*mrB[t],
y'[t]==kby* (b[t]-XXob)-kyd*(y[t]-Xoy),
xno'[t]==kyno*Fbs[y[t],Fs[AB[mrB[t]],Fass[t]]]-knod*xno[t]+Xnoe,
xpge'[t]==kypg*Fbs[y[t],Fs[AB[mrB[t]],Fass[t]]]+knopg*xno[t]-
kpgd*xpge[t]+Xpgex,

```

$r[0]==7.734*10^{-4}$ ,  $b[0]==7.2*10^{-4}$ ,  $c[0]==9.1*10^{-4}$ ,  $l[0]==1.752$ ,  $o[0]==2.286*10^{-4}$ ,  $mrB[0]==9.91*10^{-1}$ ,  $y[0]==7.3*10^{-3}$ ,  $xno[0]==2.75*10^{-2}$ ,  $xpge[0]==5*10^{-2}$ ,  
 $\{r,b,c,l,o, mrB,y,xno,xpge\}, \{t,0,totaltime\}$ ]

$\{r \rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle], b \rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle],$   
 $c \rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle], l \rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle], o$   
 $\rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle], mrB \rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle],$   
 $y \rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle], xno \rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle],$   
 $xpge \rightarrow \text{InterpolatingFunction}[\{\{0.,4000.\}\}, \langle \rangle]\}$

(\* Gráfico que representa a comparação do comportamento dos raios dos ossos na presença de doenças e de estímulos mecânicos. Simulado com o modelo de Maldonado\*)

$\text{Plot}[\{\text{Evaluate}[\{mrB[t]\}/.solMal], \text{Evaluate}[\{mrB[t]\}/.solMalPTH], \text{Evaluate}[\{mrB[t]\}/.solMalTGF], \text{Evaluate}[\{mrB[t]\}/.solMalROB}\}, \{t,0,350\}, \text{AxesLabel} \rightarrow \{$   
 $"dias", "mm"\}, \text{PlotStyle} \rightarrow \{Blue, Orange, Red, Green\}, \text{PlotLegend} \rightarrow \{"Normal", "Def. Vit. D", "Senescência", "GIO"\}, \text{PlotRange} \rightarrow All]$

Simulações de doenças do Modelo Implementado (Comparação do raio do osso)

(\* Simulação da deficiência da vitamina D através do presente Modelo \*)

$solPSPTH = \text{NDSolve}[\{$

(\*Equação diferencial que simula a população de células precursoras de Osteoblastos\*)

$OBp'[t] == AOBu[t]*DOBu*OBu*pTGF\beta actOBu[TGF\beta[OCa[t], ATGF\beta[t]]] -$   
 $DOBP*OBp[t]*pTGF\beta repOBp[TGF\beta[OCa[t], ATGF\beta[t]]] + kpger*xpge[t],$

(\*Equação diferencial que simula a população de Osteoblastos activos\*)

$OBa'[t] == DOBP*OBp[t]*pTGF\beta repOBp[TGF\beta[OCa[t], ATGF\beta[t]]] -$   
 $AAOBa[t]*AOBa*OBa[t],$

(\*Equação diferencial que simula a população de Osteoclastos activos\*)

$OCa'[t] == DOCp*OCp*pRANKLactOCp[RANKL[OPG[OBp[t], OBa[t], pPTHrepOBa[PTH[PPTHt[t], DAPTH[t]]], POPGt[t], xno[t], OPGcut[t]], RANKLeff[OBp[t], OBa[t], pPTHactOBa[$

$PTH[PPTHt[t], DAPTH[t]]], PRANKLt[t], xno[t], RANKup[t], RANKLup[t], RANKup[t]] - AOCa*OCa[t]*pTGF\beta actOCa[TGF\beta[OCa[t], ATGF\beta[t]]],$

(\*Equação diferencial que simula o volume ósseo\*)

$BV'[t] == -kkres*(OCa[t]) + kkform*(OBa[t]),$

(\*Equação diferencial que simula a população de Osteócitos\*)

$OY'[t] == kby*(OBa[t]-Xob) - kyd*(OY[t]-Xoy),$

(\*Equação diferencial que simula o raio do osso\*)

$rB'[t] == (-kres/Xoc)*OCa[t] + (kfor/Xob)*OBa[t] + (1/Xoy)*OY[t] - kr*rB[t],$

(\*Equação diferencial que simula a quantidade de NO\*)

$xno'[t] == kyno*Fbs[OY[t], Fs[AB[rB[t]], Fass[t]]] - knod*xno[t] + Xnoe,$

(\*Equação diferencial que simula a quantidade de PGE2\*)

$xpge'[t] == kypg*Fbs[OY[t], Fs[AB[rB[t]], Fass[t]]] + knopg*xno[t] -$   
 $kpgd*xpge[t] + Xpgex,$

```
(*Condições iniciais para as equações diferenciais*)
OBp[0]==6.196*10-4,OBa[0]==5.584*10-4,OCa[0]==8.070*10-4,
BV[0]==100,OY[0]==7.3*10-3,rB[0]==9.91*10-1,xno[0]==2.75*10-2,xpge[0]==5*10-2},
{OBp,OBa,OCa,BV,OY,rB,xno,xpge},{t,0,totalltime},MaxSteps->∞]
{{OBp->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],OBa->InterpolatingFunction[{{0.,4000.
.}},<],OCa->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],BV->InterpolatingFunction[{{0.,
4000.}},<],OY->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],rB->InterpolatingFunction[{{
0.,4000.}},<],xno->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],xpge->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<]}}
```

(\* Simulação da senescência através do presente Modelo \*)

```
solPSTGF=NDSolve[ {
```

```
(*Equação diferencial que simula a população de células precursoras de
Osteoblastos*)
```

```
OBp'[t]==AOBu[t]*DOBu*OBu*pTGFβactOBu[TGFβ[OCa[t],DATGFβ[t]]]-
DOBP*OBp[t]*pTGFβrepOBp[TGFβ[OCa[t],DATGFβ[t]]]+kpger*xpge[t],
```

```
(*Equação diferencial que simula a população de Osteoblastos activos*)
```

```
OBa'[t]==DOBP*OBp[t]*pTGFβrepOBp[TGFβ[OCa[t],DATGFβ[t]]]-
AAOBa[t]*AOBa*OBa[t],
```

```
(*Equação diferencial que simula a população de Osteoclastos activos*)
```

```
OCa'[t]==DOCp*OCp*pRANKLactOCp[RANKL[OPG[OBp[t],OBa[t],pPTHrepOBa[PTH[PPTH[t],APTH[t]]],POPGt[t],xno[t],OPGcut[t]],RANKLeff[OBp[t],OBa[t],pPTHactOBa[PTH[PPTH[t],APTH[t]]],PRANKLt[t],xno[t],RANKup[t],RANKLup[t],RANKup[t]]-
-AOCa*OCa[t]*pTGFβactOCa[TGFβ[OCa[t],DATGFβ[t]]],
```

```
(*Equação diferencial que simula o volume ósseo*)
```

```
BV'[t]==-kkres*(OCa[t])+kkform*(OBa[t]),
```

```
(*Equação diferencial que simula a população de Osteócitos*)
```

```
OY'[t]==kbyp*(OBa[t]-Xob)-kyd*(OY[t]-Xoy),
```

```
(*Equação diferencial que simula o raio do osso*)
```

```
rB'[t]==(-kres/Xoc)*OCa[t]+(kfor/Xob)*OBa[t]+(1/Xoy)*OY[t]-kr*rB[t],
```

```
(*Equação diferencial que simula a quantidade de NO*)
```

```
xno'[t]==kyno*Fbs[OY[t],Fs[AB[rB[t]],Fass[t]]]-knod*xno[t]+Xnoe,
```

```
(*Equação diferencial que simula a quantidade de PGE2*)
```

```
xpge'[t]==kypg*Fbs[OY[t],Fs[AB[rB[t]],Fass[t]]]+knopg*xno[t]-
kpgd*xpge[t]+Xpgex,
```

```
(*Condições iniciais para as equações diferenciais*)
```

```
OBp[0]==6.196*10-4,OBa[0]==5.584*10-4,OCa[0]==8.070*10-4,
BV[0]==100,OY[0]==7.3*10-3,rB[0]==9.91*10-1,xno[0]==2.75*10-2,xpge[0]==5*10-2},
{OBp,OBa,OCa,BV,OY,rB,xno,xpge},{t,0,totalltime},MaxSteps->∞]
{{OBp->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],OBa->InterpolatingFunction[{{0.,4000.
.}},<],OCa->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],BV->InterpolatingFunction[{{0.,
4000.}},<],OY->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],rB->InterpolatingFunction[{{
0.,4000.}},<],xno->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<],xpge->InterpolatingFunction[{{0.,4000.}},<]}}
```



(\* Simulação da osteoporose induzida por glucocorticóide (GIO) através do presente modelo \*)

solPSROB=NDSolve[ {

(\*Equação diferencial que simula a população de células precursoras de Osteoblastos\*)

OBp'[t]==DAOBu[t]\*DOBu\*OBu\*pTGF $\beta$ actOBu[TGF $\beta$ [OCa[t],ATGF $\beta$ [t]]]-  
DOBP\*OBp[t]\*pTGF $\beta$ repOBp[TGF $\beta$ [OCa[t],ATGF $\beta$ [t]]]+kpger\*xpge[t],

(\*Equação diferencial que simula a população de Osteoblastos activos\*)

OBa'[t]==DOBP\*OBp[t]\*pTGF $\beta$ repOBp[TGF $\beta$ [OCa[t],ATGF $\beta$ [t]]]-  
AAOBa[t]\*AOBa\*OBa[t],

(\*Equação diferencial que simula a população de Osteoclastos activos\*)

OCa'[t]==DOCp\*OCp\*pRANKLactOCp[RANKL[OPG[OBp[t],OBa[t],pPTHrepOBa[PTH[PPTH[t],APTH[t]]],POPGt[t],xno[t],OPGcut[t]],RANKLeff[OBp[t],OBa[t],pPTHactOBa[PTH[PPTH[t],APTH[t]]]],PRANKLt[t],xno[t],RANKup[t],RANKLup[t],RANKup[t]]

-AOCa\*OCa[t]\*pTGF $\beta$ actOCa[TGF $\beta$ [OCa[t],ATGF $\beta$ [t]]],

(\*Equação diferencial que simula o volume ósseo\*)

BV'[t]==-kkres\*(OCa[t])+kkform\*(OBa[t]),

(\*Equação diferencial que simula a população de Osteócitos\*)

OY'[t]==kbyp\*(OBa[t]-Xob)-kyd\*(OY[t]-Xoy),

(\*Equação diferencial que simula o raio do osso\*)

rB'[t]==(-kres/Xoc)\*OCa[t]+(kfor/Xob)\*OBa[t]+(1/Xoy)\*OY[t]-kr\*rB[t],

(\*Equação diferencial que simula a quantidade de NO\*)

xno'[t]==kyno\*Fbs[OY[t],Fs[AB[rB[t]],Fass[t]]]-knod\*xno[t]+Xnoe,

(\*Equação diferencial que simula a quantidade de PGE2\*)

xpge'[t]==kypg\*Fbs[OY[t],Fs[AB[rB[t]],Fass[t]]]+knopg\*xno[t]-

kpgd\*xpge[t]+Xpgex,

(\*Condições iniciais para as equações diferenciais\*)

OBp[0]==6.196\*10<sup>-4</sup>, OBa[0]==5.584\*10<sup>-4</sup>, OCa[0]==8.070\*10<sup>-4</sup>,  
BV[0]==100, OY[0]==7.3\*10<sup>-3</sup>, rB[0]==9.91\*10<sup>-1</sup>, xno[0]==2.75\*10<sup>-2</sup>, xpge[0]==5\*10<sup>-2</sup>,

{OBp, OBa, OCa, BV, OY, rB, xno, xpge}, {t, 0, totaltime}, MaxSteps->∞]

{{OBp->InterpolatingFunction[{{0., 4000.}}, < >], OBa->InterpolatingFunction[{{0., 4000.}}, < >], OCa->InterpolatingFunction[{{0., 4000.}}, < >], BV->InterpolatingFunction[{{0., 4000.}}, < >], OY->InterpolatingFunction[{{0., 4000.}}, < >], rB->InterpolatingFunction[{{0., 4000.}}, < >], xno->InterpolatingFunction[{{0., 4000.}}, < >], xpge->InterpolatingFunction[{{0., 4000.}}, < >]}}

(\* Gráfico que representa a comparação do comportamento dos raios dos ossos na presença de doenças e de estímulos mecânicos. Simulado com o presente Modelo \*)

Plot[{Evaluate[{rB[t]}/.solPS], Evaluate[{rB[t]}/.solPSPPTH], Evaluate[{rB[t]}/.solPSTGF], Evaluate[{rB[t]}/.solPSROB]}, {t, 0, 350}, AxesLabel->{"dias", "mm"}, PlotStyle->{Blue, Orange, Red, Green}, PlotLegend->{"Normal", "Def. Vit.

D", "Senescência", "GIO"}, PlotRange->{0.80, 1}]